

C. und O. Vogt-Institut für Hirnforschung  
(Direktor: Univ.-Professor Dr. med. K. Zilles)

Zentrum für Anatomie und Hirnforschung  
(Direktor: Univ.-Professor Dr. med. H.-G. Hartwig)

Medizinische Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

**Strukturelle Determinanten kortikaler Informationsverarbeitung:  
Experimentelle und neuroinformatische Untersuchungen  
zur Aktivitätsausbreitung im Säugerkortex**

Habilitationsschrift zur Erlangung der Venia legendi im Fach Anatomie

Dr. med. Rolf Kötter

2001

# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b>	<b>4</b>
<b>2</b>	<b>EXPERIMENTELLE UNTERSUCHUNG DER AREALEIGENSCHAFTEN</b>	<b>6</b>
<b>2.1</b>	<b>Methoden</b>	<b>7</b>
2.1.1	Versuchsaufbau	7
2.1.2	Herstellung der Gewebeschnitte	10
2.1.3	Chemikalien	11
2.1.4	Datenakquisition und Datenanalyse	11
<b>2.2</b>	<b>Ergebnisse</b>	<b>12</b>
2.2.1	Charakteristika der Aktivierung	12
2.2.2	Zeitliche Veränderungen der Mess-Ergebnisse	12
2.2.3	Zuverlässigkeit der Stimulus-evozierten Antworten	15
2.2.4	Einfluss der Größe des beblitzten Feldes	16
2.2.5	Effekt von Glutamat-Antagonisten	16
2.2.6	Rekonstruktion der funktionellen Konnektivität	17
<b>2.3</b>	<b>Diskussion</b>	<b>25</b>
2.3.1	Eigenschaften des Schnittpräparates	25
2.3.2	Pharmakologie der Feldpotenzial-Antworten	25
2.3.3	Anforderungen des Blitzstimulationsverfahrens	26
2.3.4	Funktionelle Karten der afferenten Konnektivität	27
<b>3</b>	<b>MULTIVARIATE ANALYSEN DER AREALVERBINDUNGEN</b>	<b>31</b>
<b>3.1</b>	<b>Voraussetzungen</b>	<b>31</b>
3.1.1	Konnektivitätsdaten	31
3.1.2	Kortikale Karten	34
3.1.3	Die CoCoMac-Datenbank der Konnektivitätsdaten	35
3.1.4	Algorithmische Transformation von Konnektivitätsdaten	40
3.1.5	Übersichtsstatistik der Konnektivitätsdaten	43
3.1.6	Pfadlänge und Clusterindex	45
<b>3.2</b>	<b>Optimale Arealgruppen-Analyse</b>	<b>46</b>
3.2.1	Methode	46
3.2.2	Ergebnisse	48
3.2.3	Diskussion	53
<b>3.3</b>	<b>Nicht-metrische multidimensionale Skalierung</b>	<b>55</b>
3.3.1	Methode	55
3.3.2	Ergebnisse	56
3.3.3	Diskussion	57

<b>4</b>	<b>COMPUTERSIMULATION KORTIKALER AKTIVITÄTSAUSBREITUNG</b>	<b>59</b>
<b>4.1</b>	<b>Simulation der topografischen Aktivitätsausbreitung</b>	<b>59</b>
4.1.1	Methoden	60
4.1.2	Ergebnisse	63
4.1.3	Diskussion	69
<b>4.2</b>	<b>Simulation der zeitlichen Aktivitätsausbreitung</b>	<b>74</b>
4.2.1	Methoden	77
4.2.2	Ergebnisse	82
4.2.3	Diskussion	88
<b>5</b>	<b>WEITERFÜHRENDE ÜBERLEGUNGEN</b>	<b>92</b>
<b>5.1</b>	<b>Informationsverarbeitung in kortikalen Arealen</b>	<b>92</b>
<b>5.2</b>	<b>Informationsverarbeitung in kortikalen Netzwerken</b>	<b>94</b>
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b>	<b>99</b>
<b>7</b>	<b>DANKSAGUNGEN</b>	<b>100</b>
<b>8</b>	<b>LITERATUR</b>	<b>101</b>
	<b>ANHANG</b>	

## 1 Einleitung

Der zerebrale Kortex ist die strukturell und funktionell komplexeste Struktur des Nervensystems der Säugetiere einschließlich des Menschen. Die Prinzipien seiner Arbeitsweise sind bis heute unverstanden. Ein besseres Verständnis kortikaler Prozesse verspricht einerseits, wichtige Einsichten in kortikale Informationsverarbeitungsprozesse als Korrelat von Verhalten und Geistesfunktionen zu liefern, und andererseits, langfristige Grundlagen für die zielgerichtete Entwicklung effektiver Behandlungsstrategien bei neurologisch/psychiatrischen Erkrankungen zu schaffen. Die Aufklärung kortikaler Funktionsprinzipien besitzt daher erhebliche neurowissenschaftliche, ethische, soziale und technische Implikationen.

Unser Verständnis kortikaler Mechanismen befindet sich trotz der starken Expansion neurowissenschaftlicher Forschungen am Ende des 20. Jahrhunderts (siehe „Decade of the brain“, „Human Brain Project“) in einem rudimentären Stadium. Eine wesentliche Ursache dafür ist der Mangel an quantitativen Daten über neuronale Strukturen von der zellulären bis zur Ebene funktioneller Systeme, insbesondere im menschlichen Gehirn (Crick & Jones, 1993). Selbst über die besten Strategien für eine erfolgversprechende Vorgehensweise bei der Aufklärung der Hirnmechanismen besteht Uneinigkeit. Während sogenannte „top down“-Strategien bei der Analyse mentaler und kognitiver Funktionen beginnen, wenden sich „bottom up“-Strategien zunächst den zellulären Elementen des Nervensystems zu. Zwischen den mentalen und zellulären Beschreibungsebenen bleiben erhebliche Erkenntnislücken, die nur schrittweise und am ehesten dort geschlossen werden können, wo die Datenlage die eine genauere Untersuchung von Struktur-Funktionsbeziehungen erlaubt. Bei diesem langwierigen Prozess ist nicht zu erwarten, dass es eine einzige und einfache Formel für die Beschreibung der Funktionsprinzipien des Gehirns geben wird. Ähnlich wie für technische Systeme werden wahrscheinlich eine Vielzahl von unterschiedlich detaillierten Betrachtungsweisen nebeneinander existieren, die für unterschiedliche Personenkreise (z.B. Entwickler, Techniker, Benutzer) relevant sind. Jede dieser Betrachtungsweisen wirft ihre eigenen Fragen auf und erfordert unterschiedliche Antworten. Grundlegende Struktur-Funktionsbeziehungen sind bereits für die Zusammenhänge zwischen Gensequenzen und dadurch kodierten Proteinen, zwischen Ionenmechanismen und neuronaler Signalverarbeitung oder zwischen lokalisierter Hirnaktivität und mentalen Prozessen formuliert worden. Gleichzeitig aber stellen diese Einsichten nur erste Schritte dar bei Fragen nach der Wechselwirkung von genetischen und Umweltfaktoren, nach dem Inhalt neuronaler Informationsverarbeitung und –speicherung, oder nach der Zusammenarbeit kortikaler Areale bei der Entstehung mentaler Phänomene.

Das Thema der vorliegenden Untersuchung sind die anatomischen Determinanten der Ausbreitung und der Muster kortikaler Aktivität. Die Wahl dieses Themas begründet sich aus der grundlegenden Überlegung, dass jegliche neuronale Informations-

verarbeitung auf der selektiven Interaktion zwischen Nervenzellen und Nervenzellverbänden und damit auf der räumlich und zeitlich koordinierten Weiterleitung von Aktivität beruht. Es geht daher um die Charakterisierung neuronaler Funktionseinheiten und ihrer Interaktionen, die auf anatomisch definierte Kommunikationswege angewiesen sind. Konkret werde ich zwei Aspekte behandeln:

Der eine Aspekt ist die intrinsische Aktivitätsausbreitung innerhalb kortikaler Areale. Zu ihrer Charakterisierung sind detaillierte Studien der morphologischen, elektrophysiologischen und pharmakologischen Eigenschaften neuronaler Mikroschaltkreise im in-vitro-Präparat erforderlich. Solche Experimente unter Verwendung optischer Rasterstimulationsverfahren und mehrfacher Feldpotenzial-Ableitungen werden in Kapitel 2 dargestellt.

Der andere Aspekt betrifft die spezifischen Interaktionen zwischen kortikalen Arealen, die durch die langen Axone der Pyramidenzellen (Assoziationsfasern) vermittelt werden. Diese werden morphologisch insbesondere durch den intravitralen Transport von applizierten Markersubstanzen (Tracern) sowie funktionell durch Läsions- und Stimulationsexperimente im in-vivo-Tiermodell untersucht und liefern in ihrer Zusammenschau Aufschluss über die globale Organisation des zerebralen Kortex. Neuroinformatische Studien zur Erfassung und Analyse der kortikalen Netzwerke werden in Kapitel 3 beschrieben.

Beide Aspekte werden im Kapitel 4 zusammengeführt. Durch die systematische Analyse und die modellhafte Simulation kortikaler Netzwerke werden grundlegende Einsichten in die intrinsischen und globalen Determinanten der kortikalen Aktivitätsausbreitung gewonnen.

Weitere Perspektiven für die Untersuchung der Informationsverarbeitungsprozesse des Gehirns auf Areal- und Netzwerkebene werden in Kapitel 5 entwickelt.

## 2 Experimentelle Untersuchung der Arealeigenschaften

Für die Charakterisierung der intrinsischen Eigenschaften kortikaler Areale lassen sich vielfältige strukturelle und funktionelle Merkmale heranziehen. Beispielsweise sind die zytoarchitektonischen, myeloarchitektonischen und ontogenetischen Merkmale kortikaler Areale seit den klassischen Untersuchungen von Brodmann (1909), Vogt & Vogt (1919), Flechsig (1920) und anderen sehr detailliert beschrieben worden. Weniger bekannt sind die morphologischen Details der neuronalen Zelltypen und ihrer intrinsischen Verschaltungen, wie sie zunächst von Ramón y Cajal (1911) und Lorente de No (1938), und später insbesondere von Szentágothai (siehe (Arbib et al., 1998) dargestellt wurden. Funktionell war zwar bereits bekannt, dass Läsionen verschiedener Hirnregionen zu spezifischen Symptomen führen, doch gab es erst mit den intraoperativen Stimulationen von Penfield (1954) und den elektrophysiologischen Studien von Mountcastle (1997) und Hubel & Wiesel (1962) genauere Informationen über die funktionelle Organisation kortikaler Areale. Diese morphologischen und funktionellen Studien bilden die Grundlage für unsere heutigen Vorstellungen über die Gliederung des Kortex in Schichten, Kolumnen, Hyperkolumnen und Areale als die grundlegenden Module der neuronalen Informationsverarbeitung.

Eine wesentliche technische Voraussetzung für detaillierte funktionelle Untersuchungen der Organisation und Aktivitätsausbreitung innerhalb kortikaler Areale ist die gezielte Stimulation kleiner Neuronenpopulationen kombiniert mit einer kompletten Erfassung der dadurch induzierten räumlichen und zeitlichen Aktivitätsausbreitung. Zur Stimulation wird üblicherweise die extrazelluläre elektrische Stimulation eingesetzt. Diese ist leicht durchführbar und reproduzierbar, erregt jedoch nicht nur lokale Neuronenpopulationen, sondern auch – und möglicherweise überwiegend – hindurchziehende Fasern entfernter Neuronenpopulationen (Nowak & Bullier, 1998a; Nowak & Bullier, 1998b). Eine spezifischere Aktivierung kann durch lokale Transmitterfreisetzung erreicht werden, die als Druckapplikation, Iontophorese oder optische Aktivierung inaktiver Vorstufen durchgeführt wird. Nur das letztgenannte Verfahren ermöglicht ein systematisches Abrastern Hunderter umschriebener Gewebebezirke im selben Präparat, da es berührungsfrei und ohne physische Schädigung eingesetzt werden kann. Aus vergleichbaren Überlegungen sind für die Erfassung der Aktivitätsausbreitung optische Messverfahren entwickelt worden, welche die Darstellung von topografisch distanten Aktivierungen ermöglichen (Albowitz & Kuhnt, 1993; London et al., 1989).

Katz und Dalva (1994) hatten erstmalig einen Versuchsaufbau entwickelt, der die Untersuchung intra-arealer Konnektivität durch optisch induzierte Freisetzung von Neurotransmittern mithilfe eines Lasers in Gewebeschnitten an vielen Hunderten konsekutiv angesteuerter Orte erlaubte. Nachteile dieses Aufbaus waren – neben den erheblichen Kosten – der hohe Aufwand für das Auffinden von Zellen ohne optische

Kontrolle und für die Konstruktion eines computerkontrollierten Rasterstimulationsverfahrens. Daher haben wir ein effizienteres und flexibleres Verfahren entwickelt, in dessen Mittelpunkt ein mobiles aufrechtes Mikroskop mit fester Tischkonstruktion steht, wodurch die mechanischen Voraussetzungen für elektrophysiologische Messungen gegeben sind und mit den Vorteilen der Infrarot-Videomikroskopie für die visuelle Identifikation und gezielte Auswahl der abzuleitenden Zellen kombiniert werden.

## 2.1 Methoden

### 2.1.1 Versuchsaufbau

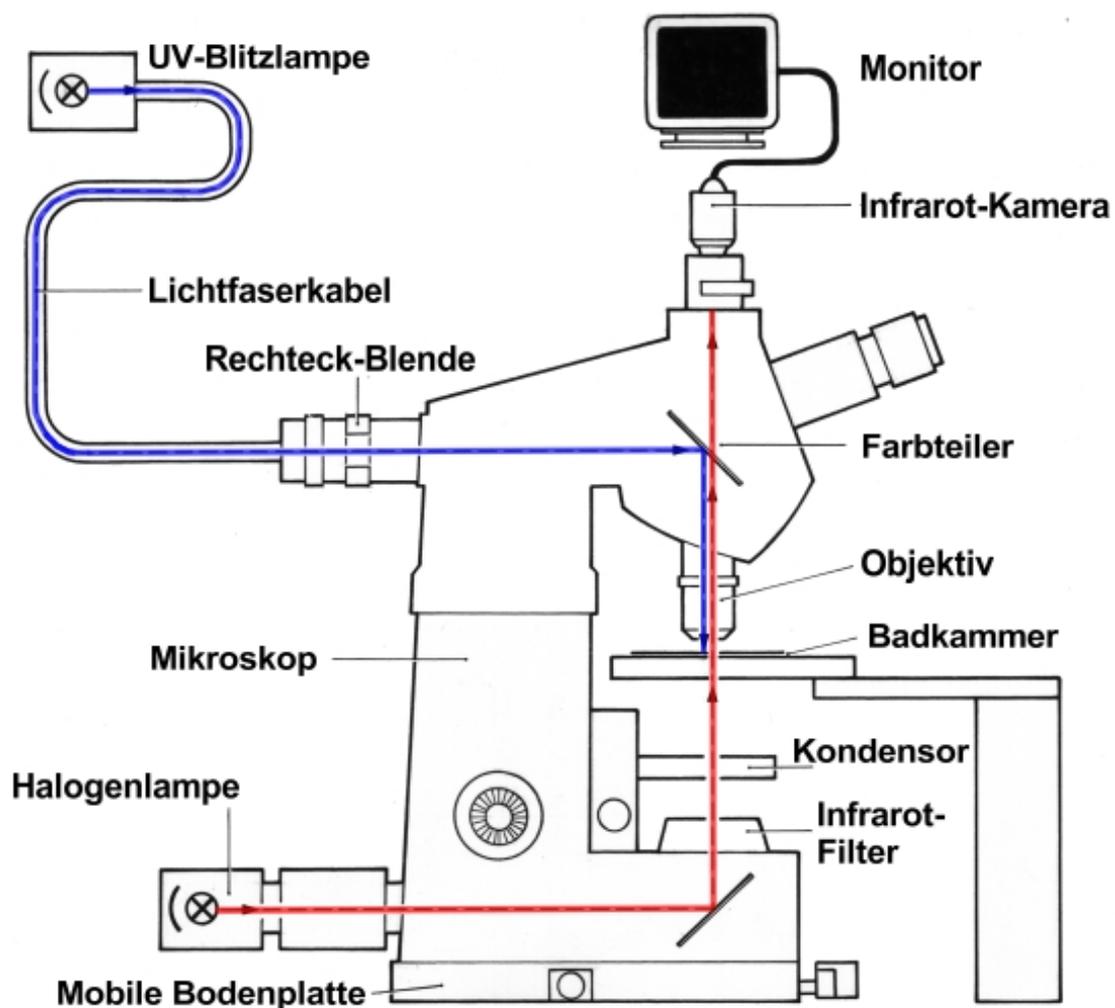


Abb. 1. Schematische Darstellung der Versuchsanordnung mit Kombination von Infrarot-Videomikroskopie, Blitzfotolyse veresteter Transmitter und computergesteuertem Rasterverfahren. Das Objektiv wird sowohl orthograd für die Erzeugung des Bildes, als auch retrograd für die Blitzfotolyse benutzt. (Modifiziert nach Kötter et al., 1998).

Das Kernstück des hier entwickelten Versuchsaufbaus (Kötter et al., 1998) ist ein aufrechtes höhenverstellbares Mikroskop (Axioskop FS, Carl Zeiss Jena), in dessen Strahlengang die Badkammer für den Gewebeschnitt montiert war (Abb. 1). Die Infrarotbeleuchtung erfolgte von unten mit einer 100 W Halogenlampe und einem Infrarotfilter (KMZ 50-2, lambda-Mittel 750 nm, Breite 57 nm, maximale Transmission 0,56, Schott, Mainz), der auf die Leuchtfeldblende aufgelegt wurde. Das Bild des Gewebes wurde von einer CCD-Kamera (C5405-01, Hamamatsu Photonics Deutschland, Herrsching) aufgefangen, digital gefiltert und für die Monitorarstellung verstärkt. Ein Objektiv mit 2,5-facher Vergrößerung diente der groben Positionierung von Mikroskop und Mess-Elektroden, während ein 40x Wasserimmersionsobjektiv für die Zellidentifikation und die optische Freisetzung des Transmitters eingesetzt wurde. Der relativ große Arbeitsabstand von 1,92 mm erleichterte das kollisionsfreie Verschieben von Mikroskop und Elektroden.

Das Mikroskop stand auf einer mobilen Plattform und konnte mithilfe von Motoren in zwei Dimensionen computergesteuert bewegt werden (Infrapatch, Luigs & Neumann, Ratingen) (Abb. 2). Der PC für die Ansteuerung der Motoren lieferte außerdem ein Signal an die Stimulations- und Mess-Software (TIDA for Windows, HEKA, Lambrecht), so dass Aktivierung von Blitzlampe, Aufzeichnung und Motoren aufeinander abgestimmt werden konnten.

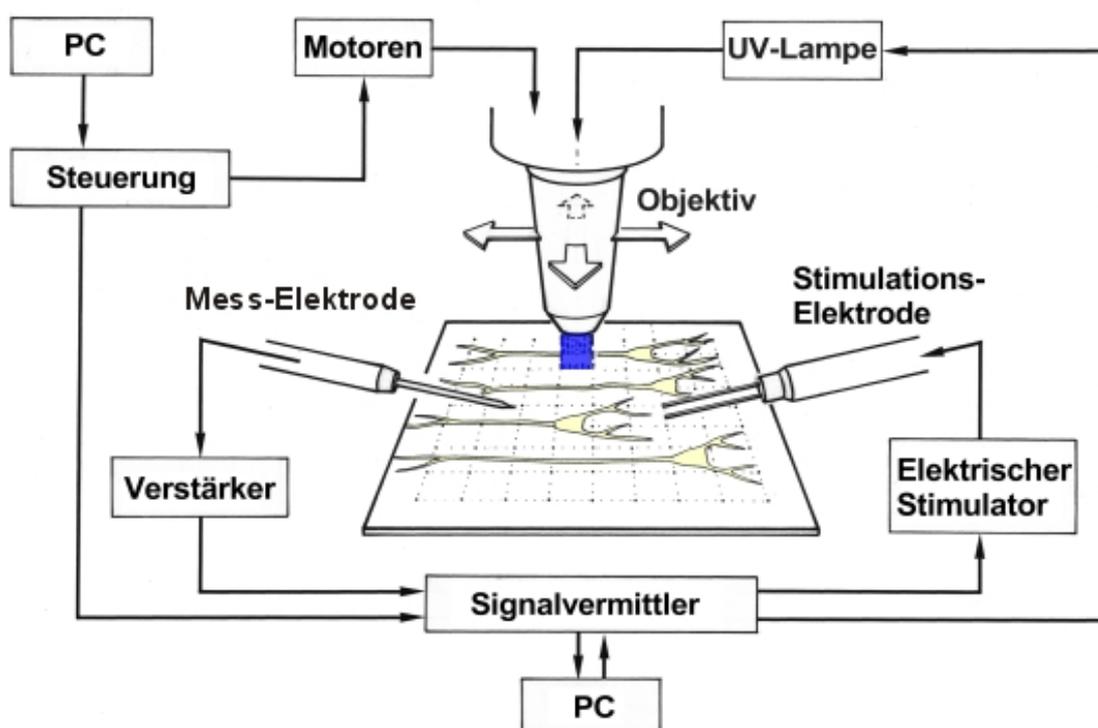


Abb. 2. Schematischer Ablauf des Rasterstimulationsverfahrens. Das Diagramm zeigt den Signalfluss zwischen den Komponenten für Rastern, Stimulation und Messung bei der Kartierung von funktioneller Konnektivität. (Modifiziert nach Kötter et al., 1998).

Die optische Freisetzung des zunächst veresterten und damit inaktiven Neurotransmitters wurde durch eine gepulste Xenon-Blitzlampe (TILL Photonics, Martinsried) erreicht, deren Licht über einen flexiblen Lichtleiter zum Epifluoreszenzanschluss des Mikroskops, und von dort retrograd durch das Objektiv auf den Gehirnschnitt, fokussiert wurde. Wellenlängen  $>390$  nm wurden durch ein Spezialfilter blockiert, um eine Erwärmung des Gewebes zu vermeiden. Position und Größe des beleuchteten Feldes wurden durch variable Rechteckblenden auf  $100\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$  eingestellt. Die Blitzlampe konnte manuell oder durch einen elektrischen Puls ausgelöst werden und erlaubte Blitzfrequenzen von maximal 1 Hz. Die Intensität des Lichtblitzes wurde durch Einbringen der schwarzen Oberfläche eines pyroelektrischen Detektors (PEM 8, Starna, Pfungstadt) in den Strahlengang bestimmt. Der Detektor maß den durch den Lichtstrahl verursachten Temperaturanstieg (Wellenlängensensitivität: 190 nm bis 25  $\mu\text{m}$ ) und lieferte ein Spannungssignal, dessen Maximum proportional zur Energie des Lichtstrahls war.

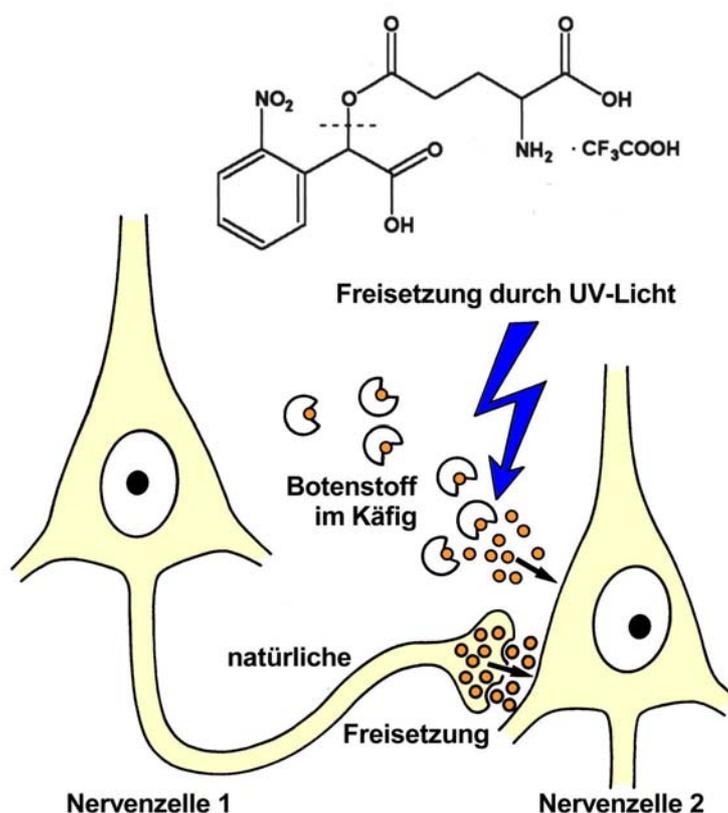


Abb. 3. Struktur und Wirkungsweise des veresterten Glutamat. Oben: Primärstruktur des in der  $\gamma$ -Position mit einer Carboxy-nitrobenzyl-(CNB)-Gruppe veresterten Glutamat. Die gestrichelte Linie deutet auf die Esterbindung zwischen der lightsensitiven Inaktivierungsgruppe (links) und dem Glutamat (rechts). Unten: UV-Licht bewirkt die Freisetzung des aktiven Glutamat. Ähnlich wie bei der synaptischen Transmitterfreisetzung werden dadurch Glutamat-Rezeptoren an der postsynaptischen Membran aktiviert.

Eine weitere Voraussetzung für den Einsatz dieses Verfahrens war die Entwicklung besserer fotolabiler Transmitterderivate, deren Freisetzung eine hohe Ausbeute pro Lichtquant und eine kurze Halbwertszeit besitzt. Wir verwendeten den Transmitter Glutamat, der in der  $\gamma$ -Position mit einer Carboxy-nitrobenzyl-(CNB)-Gruppe verestert ist (Abb. 3). Die maximale Absorption dieser Substanz lag bei 263 nm (Molecular Probes, Eugene, OR). In wässrigen Lösungen zeigte  $\gamma$ -CNB-verestertes Glutamat keine nennenswerte spontane Hydrolyse ( $< 2\%$  nach zwei Tagen) (Wieboldt et al., 1994) und erlaubte daher den Einsatz hoher Konzentrationen ohne die Gefahr lichtunabhängiger Glutamatfreisetzung.

Die Kombination dieser Methoden ermöglichte nun die Stimulation lokaler Neuronenpopulationen für die Analyse der funktionellen Konnektivität innerhalb definierter Areale in kortikalen Gewebeschnitten.

### 2.1.2 Herstellung der Gewebeschnitte

Für die Untersuchungen der intra-arealen Aktivitätsausbreitung wurde der primäre somatosensorische („Barrel-“) Kortex (Par1; Zilles, 1985) der Ratte gewählt. Dieser bietet eine klare – und bereits im ungefärbten Schnittpräparat sichtbare – anatomische Gliederung in kolumnäre Strukturen, die individuellen Barthaaren des Tieres zugeordnet werden können. Die Anfertigung der koronaren oder schrägen Schnittpräparate erfolgte folgendermaßen: Männliche Wistarratten im Alter von P15-P25 aus der universitätseigenen Tierzucht wurden mit Diethyl-Äther tief anästhetisiert und dekapitiert. Nach Freilegung des Gehirns wurde mit zwei koronaren Schnitten ein Gewebblock mit dem somatosensorischen Kortex isoliert. Der Gewebblock wurde schnell für ein paar Minuten in eiskalten künstlichen Liquor (artifizielle cerebrospinale Flüssigkeit, ACSF) getaucht, der mit Karbogen (95% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>) bei einer Flussrate von 1-2 ml/min durchperlt wurde. Die Standardkomposition des ACSF enthielt (in mM): NaCl 124, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> 1.25, NaHCO<sub>3</sub> 26, CaCl<sub>2</sub> 1.6, MgSO<sub>4</sub> 1.8, KCl 3, Glukose 10 bei pH 7.4. Bei einigen Experimenten wurde ACSF mit niedriger Ca<sup>2+</sup>- und hoher Mg<sup>2+</sup>-Konzentration verwendet, dessen Komposition sich in folgenden Werten unterschied: CaCl<sub>2</sub> 0.2, MgSO<sub>4</sub> 4.0. Der Gewebblock wurde auf die Schneideplattform eines Vibratoms geklebt (Series 1000, TPI, St. Louis, MO) und mit eiskaltem ACSF überspült. Gewebsschnitte mit einer nominellen Dicke von 400  $\mu$ m wurden für mindestens eine Stunde in eine Inkubationskammer überführt, die Karbogen-durchperlten ACSF mit einer Temperatur von 34 °C enthielt. In den Versuchen mit verestertem Glutamat wurde ein Volumen von ungefähr 5 ml ACSF kontinuierlich mit Karbogen durchperlt und mit einer peristaltischen Pumpe zur Badkammer rezirkuliert.

### 2.1.3 Chemikalien

Alle Chemikalien wurden bei der Fa. Merck gekauft mit Ausnahme von verestertem Glutamat (L-Glutaminsäure,  $\gamma$ -( $\alpha$ -carboxy-2-nitrobenzyl)-Ester, Molecular Probes, Eugene, OR), APV (DL-2-amino-5-Phosphonovalerinsäure, Sigma, St. Louis, MO), Bicucullin-Methiodid (BMI, Sigma, St. Louis, MO), NBQX (1,2,3,4-tetrahydro-6-nitro-2,3-dioxo-benzo[f]quinoxaline-7-Sulfonamid) und TTX (Tetrodotoxin) (RBI, Natick, MA). Verestertes Glutamat wurde in ACSF gelöst und zu der zirkulierenden Flüssigkeit in einer Endkonzentration von 1 mM hinzugefügt.

### 2.1.4 Datenakquisition und Datenanalyse

Die laminäre und kolumnäre Architektur des primären somatosensorischen Kortex der Ratte war mit dem 2.5x-Objektiv bei Lichtstreuung durch einen maximal heruntergeschraubten Kondensator sichtbar. Dadurch konnte eine bipolare Wolframelektrode in den infragranulären Schichten und eine mit ACSF gefüllte Messpipette aus Glas vertikal darüber in den supragranulären Schichten des „Barrel“-Kortex positioniert werden. Infrarot-Videoverstärkung wurde zur Bestätigung der laminären und Tiefen-Positionierung der Elektroden benutzt und lieferte genügend Kontrast für die Identifizierung individueller Zellen einschließlich ihrer Dendriten und Axone (siehe auch Abb. 9A).

Die mit der Glaspipette abgeleiteten Signale wurden verstärkt (SEC-05L, npi Electronics, Tamm) und auf einem Speicheroszilloskop angezeigt. In weiteren Versuchen wurden Multi-Elektrodenmessungen durchgeführt. Die Multi-Elektrode bestand aus fünf Wolfram-Elektroden (4-5 M $\Omega$ ; FHC Inc., Bowdoinham, ME, USA), die in einem Abstand von 250  $\mu$ m bzw. 500  $\mu$ m parallel angebracht wurden und die simultane Messung der extrazellulären Feldpotenziale entweder in mehreren Schichten oder in mehreren kortikalen Kolumnen erlaubten. Die Multi-Elektrodensignale wurden separat Tiefpass-gefiltert und verstärkt. Alle Signale wurden bei 10 kHz digitalisiert (ITC-16 interface board, Instrutech, Great Neck, NY, USA) mit der TIDA software (Version 2.64 for Windows, HEKA, Lambrecht) für die spätere Analyse aufgezeichnet. Die Kriterien für die Berücksichtigung der Feldpotenziale waren 1. Abwesenheit epileptiformer Aktivität, 2. Latenzen vom Stimulus bis zum Maximum der Antwort > 5 ms als Hinweis auf orthodrom evozierte Feldpotenziale, 3. minimale evozierte Amplituden von 1 mV, 4. Doppelpuls-Inhibition > 60%. Die Datenanalyse wurde separat im Anschluss an die Experimente durchgeführt.

Die Schnittpräparate wurden in der Badkammer fotografiert, um die Lage des Areal und der Schichten, und die Positionen von Stimulations- und Mess-Elektrode im Gewebe zu dokumentieren. Nach Abschluss der Experimente wurden die Schnittpräparate in 4% gepuffertem Paraformaldehyd fixiert, auf 50  $\mu$ m Dicke

geschnitten und mit Kresylviolett nach Nissl zur zytologischen Identifizierung der Schichten gefärbt.

Für die Kartierung der funktionellen Konnektivität wurde zunächst das Maximum der negativen Feldpotenziale detektiert, sofern es einen Mindestwert von 30-50  $\mu\text{V}$  überschritt. Topografische Karten wurden erstellt auf der Basis der maximalen Feldpotenzial-Amplituden, der Latenz bis zu diesem Maximum oder der (aus Distanz und Latenz berechneten) scheinbaren Geschwindigkeit. Die Werte wurden in Pseudofarben mithilfe des Software-Pakets Mathematica (Wolfram Research Inc., Champaign, IL) dargestellt und auf die digitalisierten Bilder des Gewebeschnitts im Nativzustand oder nach histologischer Verarbeitung überlagert, um die Zuordnung von Struktur und Funktion zu erreichen.

Zur Evaluierung des Effekts des GABA<sub>A</sub>-Rezeptor-Antagonisten BMI auf die Geschwindigkeit der Aktivitätsausbreitung wurden Karten der Latenz-Differenzen zwischen der Standard- und der BMI-Bedingung erstellt und die Wahrscheinlichkeit errechnet, dass diese aus einer Population von 1000 entsprechenden Karten mit zufällig invertierten Latenz-Differenzen entstammen. Dieses Verfahren überprüft die Null-Hypothese, dass BMI keinen Effekt auf die Latenzen besitzt.

## **2.2 Ergebnisse**

### **2.2.1 Charakteristika der Aktivierung**

Abb. 4 zeigt Populationen von supragranulären Feldpotenzial-Antworten auf intrakolumnäre elektrische Stimulation in infragranulären Schichten (A) und auf Blitzfotolyse von verestertem Glutamat in den supragranulären Schichten nahe der Mess-Elektrode im selben Experiment. Elektrische Stimulation in den infragranulären Schichten bewirkt Feldpotenzial-Antworten mit Amplituden von 1 bis 3 mV und Latenzen zwischen Stimulus und maximaler Antwort von 5 bis 12 ms. Die Freisetzung von verestertem Glutamat nahe der Mess-Elektrode in den supragranulären Schichten ruft ein negatives Potenzial bei 2 bis 3 ms hervor, das typischerweise von einem kleineren Potenzial bei 8 bis 12 ms gefolgt wird. Die Überlagerung der beiden Feldpotenzial-Antworten bei derselben Zeitskala (C) hebt die unterschiedlichen Antwortzeiten für die zwei Stimulationsorte und die Größe der Blitz-induzierten Antwort hervor.

### **2.2.2 Zeitliche Veränderungen der Mess-Ergebnisse**

Aufgrund der eingeschränkten Oxygenierung und der Rezirkulation von Metaboliten in einem kleinen Volumen (5 ml) ACSF während der Blitzfotolyse-Experimente war es notwendig, den Verlauf typischer Messvariablen über einen ausgedehnten Zeitraum von zwei Stunden zu messen. Hierzu stimulierten wir die Schnittpräparate regelmäßig

alle zwei Minuten und bestimmten die maximalen Feldpotenzial-Antworten auf elektrische Doppelpuls-Stimulation der infragranulären Schichten vertikal unter der Mess-Elektrode, die prozentuale Inhibition des zweiten Pulses, sowie die maximalen Feldpotenzial-Antworten auf Blitzfotolyse von verestertem Glutamat nahe der Messstelle. Wie die Abb. 5 zeigt, nahmen über diesen Zeitraum die maximalen Feldpotenzial-Antworten auf ca. 80% für elektrische und ca. 90% für Blitz-Stimulation ab, während die Doppelpuls-Inhibition im gleichen Zeitraum konstant bei 65-70% blieb.

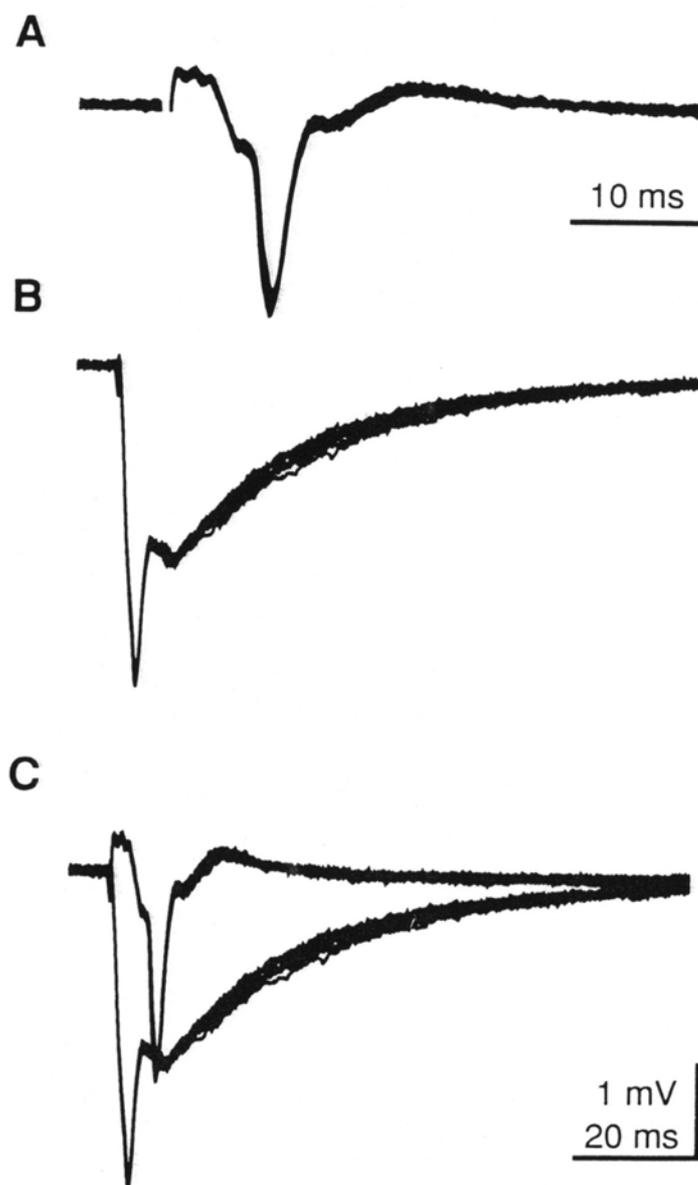


Abb. 4. Extrazelluläre Feldpotenzial-Antworten in den supragranulären Schichten des somatosensorischen Kortex der Ratte. Zehn Messungen aus dem selben Experiment wurden überlagert. Die Abbildung zeigt Antworten auf elektrische Stimulation in infragranulären Schichten (A; obere Zeitskala), Blitzfotolyse von verestertem Glutamat nahe der Messstelle (B; untere Zeitskala), beide superponiert (C; untere Zeitskala). (Kötter et al., 1998).

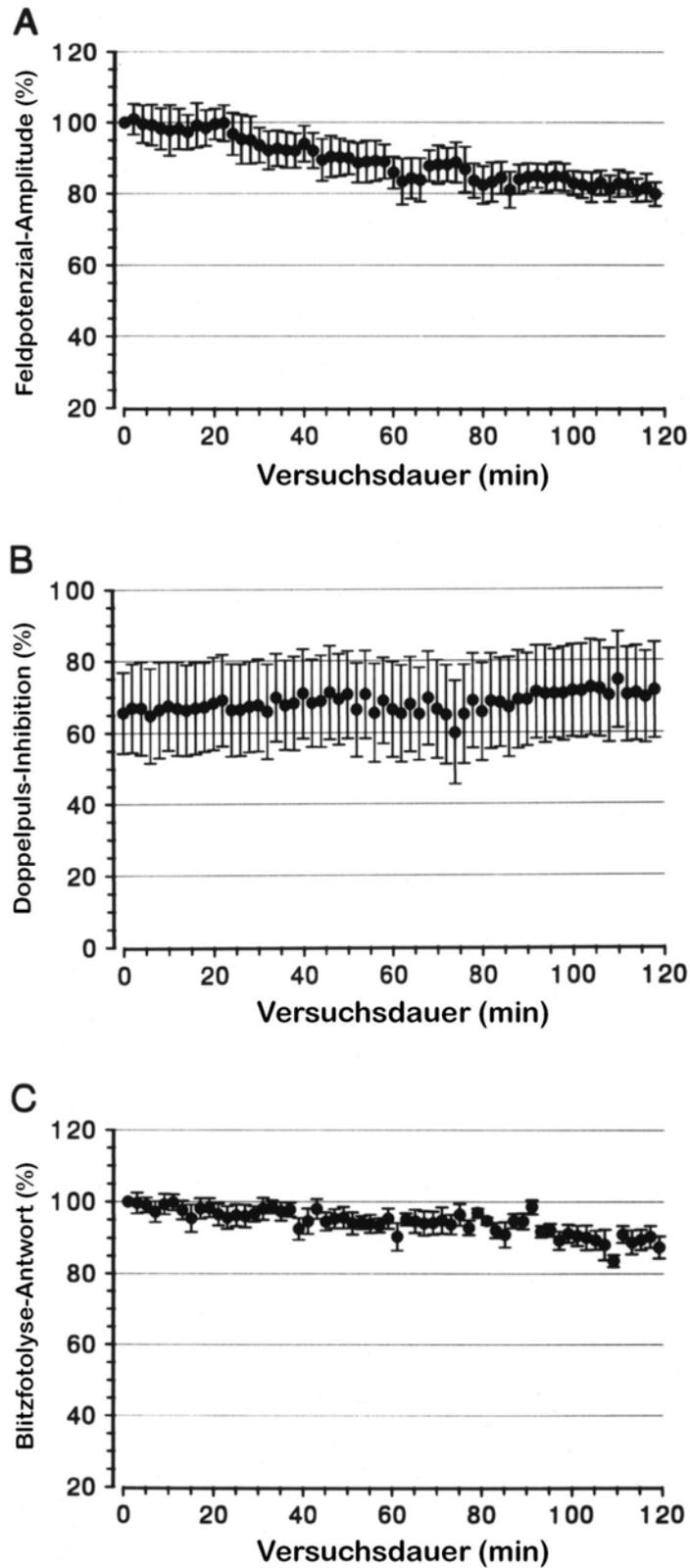


Abb. 5. Langzeitmessungen von Feldpotenzial-Antworten hervorgerufen durch elektrische Stimulation (A, B,  $n = 5$ ) oder durch Blitzfotolyse von verestertem Glutamat (C,  $n = 6$ ). Die Daten wurden normalisiert auf die jeweilige Maximalamplitude zum Zeitpunkt  $t=0$  min in A und C und dargestellt als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler des Mittelwerts. (Kötter et al., 1998).

### 2.2.3 Zuverlässigkeit der Stimulus-evozierten Antworten

Die Abhängigkeit der Feldpotenzial-Antworten vom Interstimulus-Intervall ist ein weiterer Indikator der Lebensfähigkeit der Schnittpräparate und der Zuverlässigkeit der synaptischen Antworten unter in-vitro-Bedingungen. Die Abb. 6 zeigt, dass die elektrisch evozierten Feldpotenzial-Antworten stabil waren bis zu einer Verkürzung des Interstimulus-Intervalls auf 10 s. Bei geringeren Intervallen nahmen die Amplituden der Feldpotenzial-Antworten linear ab. Die Doppelpuls-Inhibition nahm bei Intervallen von weniger als 10 s ebenfalls ab, zeigte jedoch einen eher exponentiellen Verlauf. Ähnlich verhielten sich die durch Blitzfotolyse induzierten Feldpotenzial-Antworten, deren Abnahme bei Intervallen unterhalb von 6 s besonders rasch fortschritt. Ein sehr ähnlicher Verlauf in Abhängigkeit von dem Interstimulus-Intervall konnte ebenfalls für die Lichtintensität des Blitzes am Ausgang des Lichtleiters festgestellt werden.

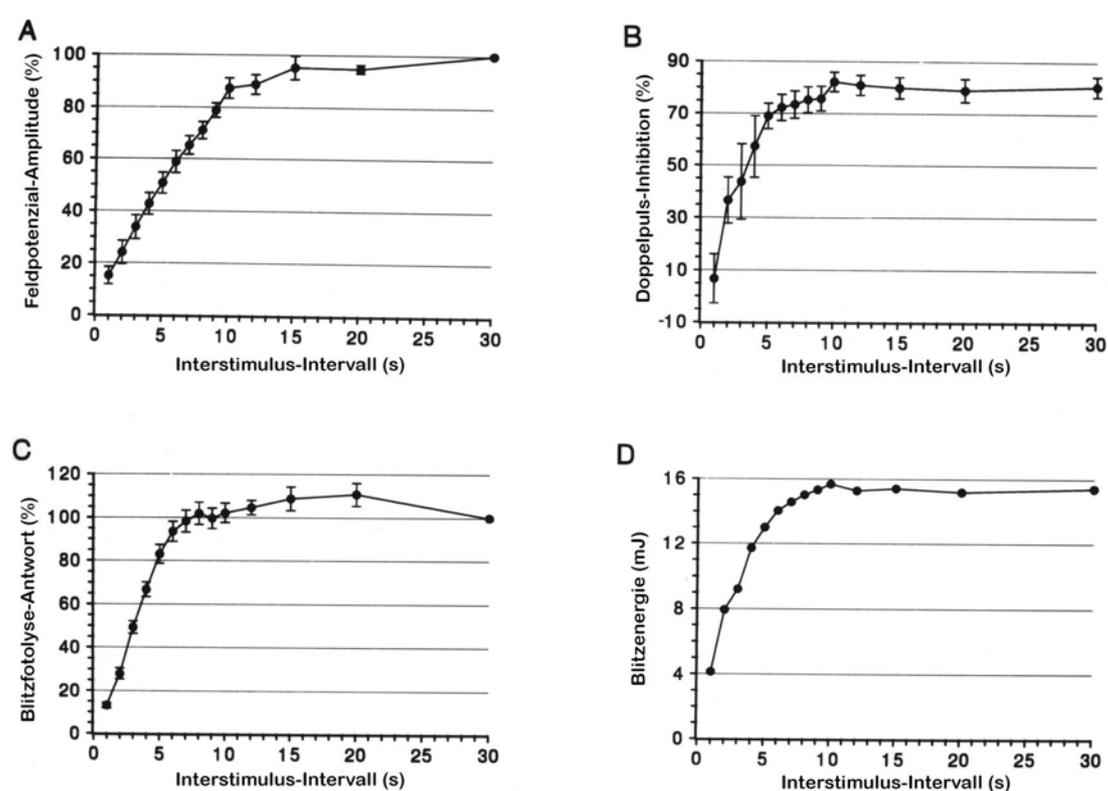


Abb. 6. Abhängigkeit der Feldpotenzial-Antworten, der Doppelpuls-Inhibition und der Blitzintensität von der Dauer des Interstimulus-Intervalls im Bereich von 1 bis 30 s. A: Feldpotenzial-Antworten auf elektrische Stimulation ( $n = 11$ ), B: Doppelpuls-Inhibition ( $n = 11$ ), C: Feldpotenzial-Antworten auf Blitzfotolyse von verestertem Glutamat naher der Messstelle ( $n = 11$ ), D: Intensität des Xenon-Blitzlichts nach Durchtritt durch den Lichtleiter gemessen mit einem pyro-elektrischen Sensor und konvertiert in Einheiten der Energie ( $n = 10$ ). (Kötter et al., 1998).

## 2.2.4 Einfluss der Größe des beblitzten Feldes

Die durch Blitzfotolyse von verestertem Glutamat nahe der Mess-Elektrode hervorgerufenen Feldpotenzial-Antworten zeigen eine deutliche Abhängigkeit von der Größe der beblitzten Fläche (Abb. 7). Die kleinste beblitzte Fläche, die bei diesem Versuchsaufbau noch zuverlässige Feldpotenzial-Antworten hervorruft, maß  $20\ \mu\text{m} \times 20\ \mu\text{m}$ . Beblitzung einer Fläche von  $50\ \mu\text{m} \times 50\ \mu\text{m}$  nahe der Mess-Elektrode bewirkte Feldpotenzial-Antwortamplituden von etwa  $1\ \text{mV}$ . Diese nahmen auf  $3$  bis  $4\ \text{mV}$  zu, wenn die Größe des beblitzten Feldes auf  $100\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$  erhöht wurde. Unter Zugabe von  $1\ \mu\text{M}$  BMI wurden Feldpotenzial-Antworten von ca.  $1\ \text{mV}$  Amplitude an Stimulationsorten erreicht, die bis zu  $1\ \text{mm}$  horizontal (intralaminär) entfernt lagen. Eine weitere Vergrößerung der beblitzten Fläche erzielte kaum größere Feldpotenzial-Antworten. Das Hinzufügen des veresterten Glutamat alleine ohne Blitzfotolyse hatte keinen Effekt auf die Feldpotenziale. Umgekehrt war auch die Beblitzung des Gewebes oder der Glaselektrode in Abwesenheit von verestertem Glutamat ohne messbare Auswirkungen (nicht gezeigt).

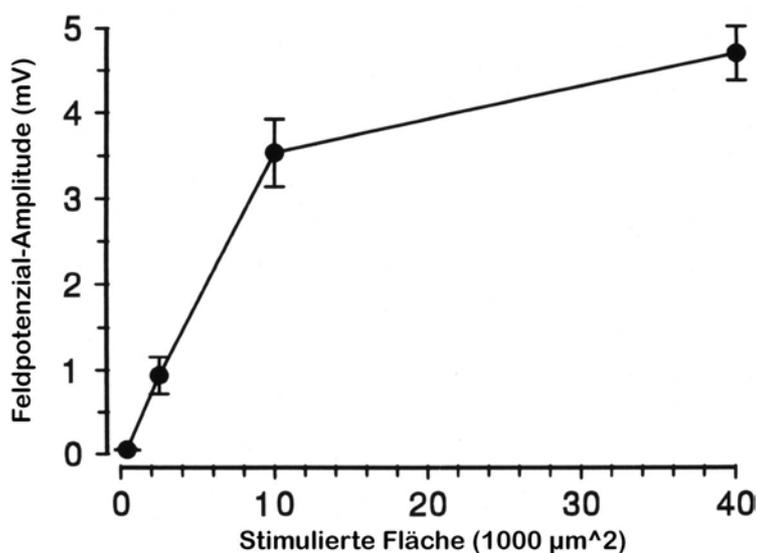


Abb. 7. Einfluss der Größe des beblitzten Feldes nahe der Messstelle auf die Amplitude der Feldpotenzial-Antworten ( $n=10$ ). (Kötter et al., 1998).

## 2.2.5 Effekt von Glutamat-Antagonisten

Die maximalen Feldpotenzial-Antworten nach elektrischer oder Blitz-induzierter Stimulation, wie unter 2.2.1 beschrieben, zeigen keine Beeinflussung durch die kompetitive Blockade von Glutamatrezeptoren des NMDA-Typs unter Einsatz von  $30\ \mu\text{M}$  D,L-APV (Abb. 8). Sie wurden jedoch fast vollständig ausgelöscht durch zusätzliche Beigabe von  $10\ \mu\text{M}$  NBQX, einem kompetitiven Antagonisten der Glutamatrezeptoren des AMPA-Typs. Große Blitz-induzierte Feldpotenzial-Antworten zeigten unter Standardbedingungen typischerweise eine frühe und eine

späte Komponente. Allein die späte (und kleinere) Komponente wurde durch Hinzufügen von APV im Sinne einer Verringerung beeinflusst.

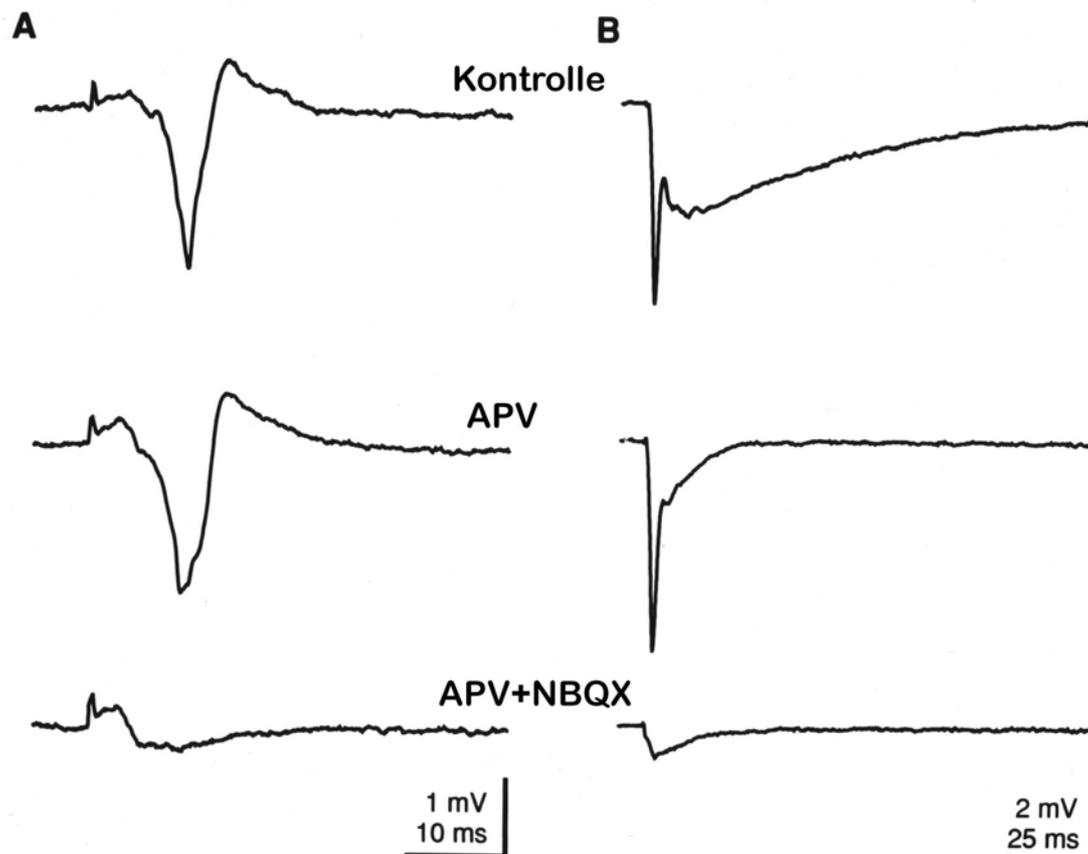


Abb. 8. Beeinflussung der Feldpotenzial-Komponenten durch den kompetitiven Hemmer von Glutamatrezeptoren des NMDA-Typs, APV (30  $\mu$ M), und des AMPA-Typs, NBQX (10  $\mu$ M). Die Abbildung zeigt typische Feldpotenzial-Antworten hervorgerufen durch elektrische Stimulation in den infragranulären Schichten (A), bzw. durch Blitzfotolyse von verestertem Glutamat nahe der supragranulären Messstelle (B). (Kötter et al., 1998).

## 2.2.6 Rekonstruktion der funktionellen Konnektivität

Das komplette Ausmaß des Feldes, von dem aus Feldpotenzial-Antworten an einer supragranulären Messstelle im „Barrel“-Kortex hervorgerufen werden konnten, ist in Abb. 9 gezeigt. Verestertes Glutamat wurde durch Blitzfotolyse in Feldern von 100  $\mu$ m x 100  $\mu$ m Kantenlänge freigesetzt. Der Fokus des Blitz lag ungefähr 50  $\mu$ m unterhalb der oberen Oberfläche des Schnittpräparats. Er fuhr in einer Ochsenkarren-artigen Bewegung alle 5 oder 10 s um 100  $\mu$ m zum nächsten Nachbarfeld und deckte damit eine Gesamtfläche von 1100 x 2600  $\mu$ m ab. Durch Eintragen der maximalen Feldpotenzial-Antworten in die Karte der beblitzten Felder entstand daraus eine Karte der funktionellen Konnektivität für die Eingänge der gemessenen Neuronenpopulation (B).

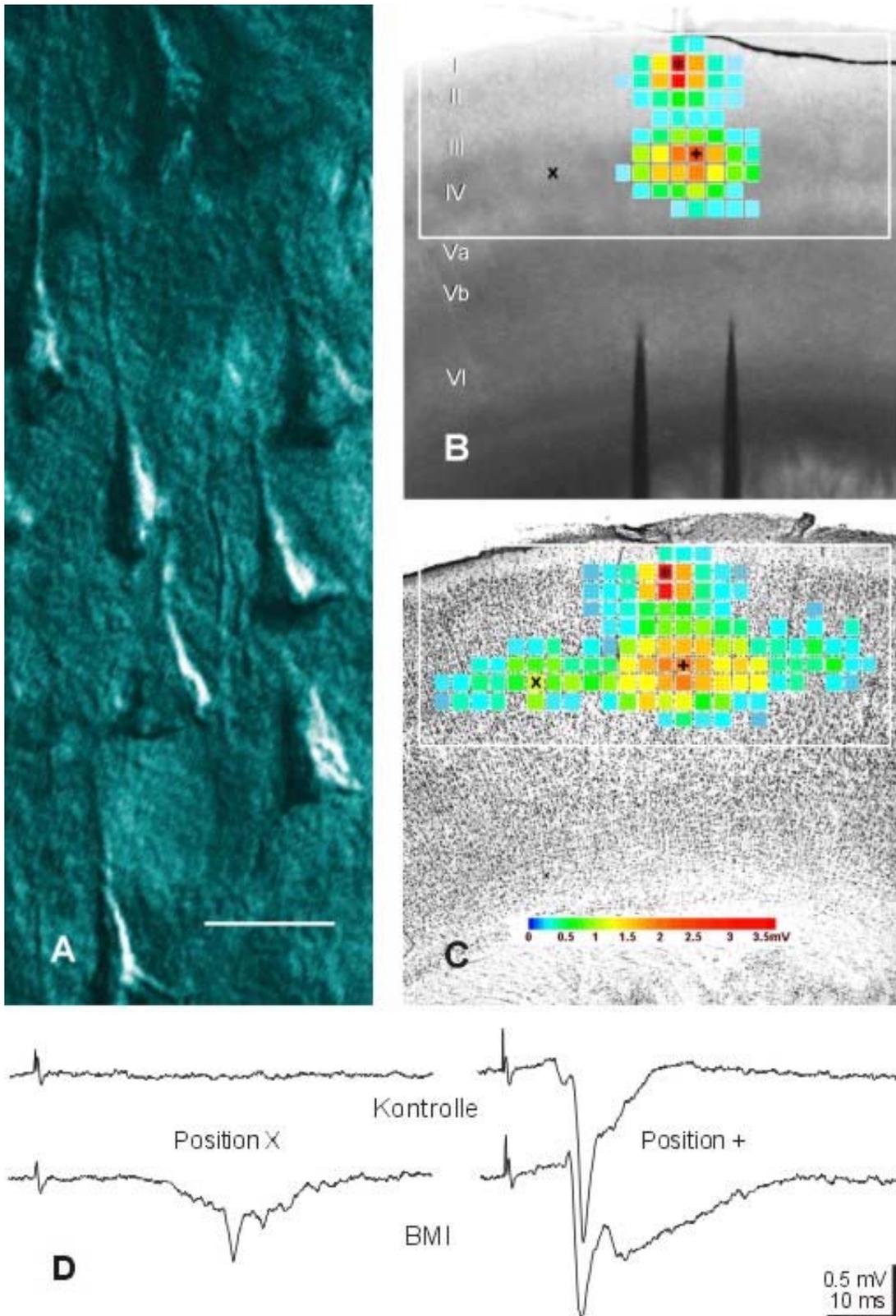


Abb. 9. A) Infrarot-videoverstärktes Bild von Pyramidenzellen im somatosensorischen Kortex der Ratte. Der Balken entspricht einer Länge von 20  $\mu\text{m}$ . B und C: Topografische Karten der funktionellen Afferenzen supragranulärer Neurone in einem Frontalschnitt durch den somatosensorischen Kortex der Ratte. Die Farbflächen repräsentieren Felder von 100  $\mu\text{m}$  x

100  $\mu\text{m}$  Größe, die mit UV-Licht beblitzt wurden. Dies führte zu Feldpotenzial-Antworten an der Messstelle in der supragranulären Schicht II, deren Maximalamplitude durch die Farbe der Fläche kodiert ist. Der weiße Rahmen zeigt das Ausmaß der im Rasterverfahren untersuchten Fläche, von der nur die responsiven Felder farblich markiert wurden. Die mit  $\times$  und  $+$  markierten Felder bezeichnen die Stimulationsorte für die in D gezeigten Feldpotenzial-Antworten. B) Funktionelle Karte unter Kontrollbedingungen superponiert auf das Schnittpräparat, wie es sich mit dem 2.5x-Objektiv in der Badkammer darstellt. Die römischen Zahlen bezeichnen die kortikalen Schichten. Die Position der Elektrodenspitze für die Messung ist mit einem Stern markiert. C) Nach Badapplikation von 1  $\mu\text{M}$  Bicucullin-Methiod (BMI) vergrößert sich der Bereich der funktionellen Afferenzen, der im gleichen Maßstab und an der gleichen Position des Schnittes nach Fixierung und Nissl-Färbung dargestellt ist. Die Skala der Maximalamplituden bezieht sich auf B und C. D) Feldpotenzial-Antworten evoziert durch Blitzfotolyse von verestertem Glutamat unter Kontrollbedingungen (obere Kurven) und nach Applikation von 1  $\mu\text{M}$  BMI (untere Kurven) für die zwei durch  $\times$  und  $+$  markierten Stimulationsorte in B und C. (Kötter et al., 1998).

Die größten Feldpotenzial-Amplituden wurden durch Beblitzung nahe der Spitze der Mess-Elektrode erhalten. Große Antworten folgten auch auf Stimulation im Bereich der Schicht IV kolumnär unterhalb der Messstelle. Diese Stelle war von dem supragranulären Maximum durch einen deutlichen Streifen von Feldern mit kleinen Feldpotenzial-Antworten nahe der Grenze von Schicht III/IV getrennt. Durch Zugabe einer niedrigen Konzentration von Bicucullin-Methodid (1  $\mu\text{M}$ ) erweiterte sich der responsive Bereich in der horizontalen Richtung vor allem in der Schicht IV (C). In den supragranulären Schichten war der Effekt weitaus geringer, obwohl die beblitzten Areale näher zur Mess-Elektrode lagen. Bei detaillierter Auswertung der Feldpotenzial-Antworten zeigte sich unter BMI-Zugabe ein Anstieg der mit großer Latenz hervorgerufenen Amplituden mit Stimulus-zu-Maximum-Latenzen von 17 ms bei Stimulation 500  $\mu\text{m}$  kolumnär unterhalb der Messstelle bzw. 28 ms bei einer diagonalen Distanz von 900 - 1000  $\mu\text{m}$  (D).

Um den Anteil der synaptisch hervorgerufenen Signale von den durch direkte Stimulation der postsynaptischen Rezeptoren auf der gemessenen Neuronenpopulation unterscheiden zu können, wurden Kontrollexperimente in der Gegenwart von Tetrodotoxin (TTX, 2  $\mu\text{M}$ ) durchgeführt, das spannungsabhängige Natriumkanäle ausschaltet. Weitere Kontrollen verwendeten künstlichen Liquor mit niedrigen Calcium- und hohen Magnesiumkonzentrationen ( $\text{CaCl}_2$  0.2 mM,  $\text{MgSO}_4$  4.0 mM; siehe 2.1.2), wodurch die synaptische Signalübertragung gehemmt wird. Beide Bedingungen führten zu einer gut reproduzierbaren Reduktion des auf Blitzfotolyse responsiven Feldes auf eine maximale Distanz von 200 - 300  $\mu\text{m}$  zur Messstelle (Abb. 10).

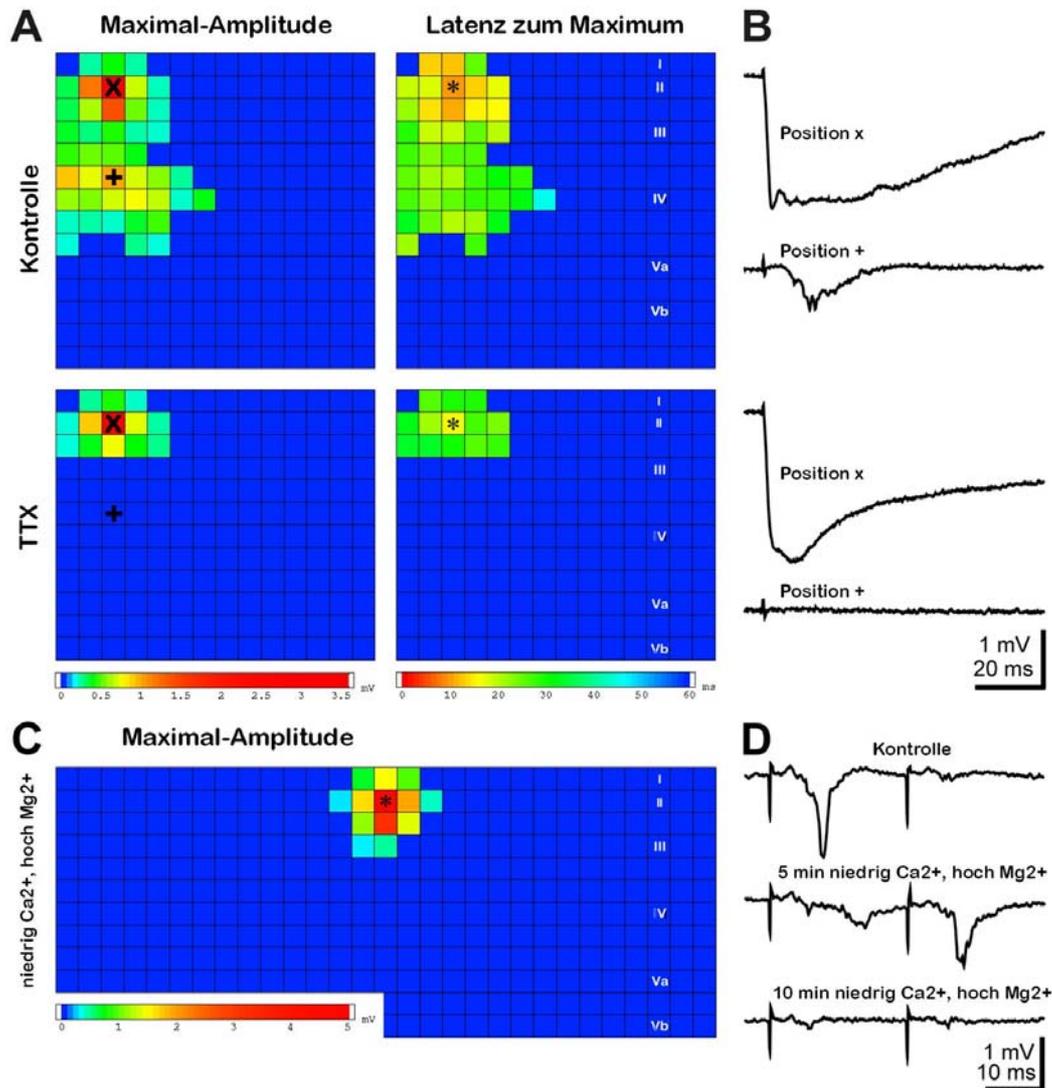


Abb. 10. A) und C): Topografische Karten der funktionellen Konnektivität wie in der vorherigen Abbildung; Die Farbflächen entsprechen den beblitzten Arealen einer Größe von 100  $\mu\text{m}$  by 100  $\mu\text{m}$ ; die römischen Zahlen markieren die entsprechenden kortikalen Schichten; die Position der Pipettenspitze der Mess-Elektrode ist mit dem Stern markiert. A) Maximalamplituden (links) und Latenzen bis zur Maximalamplitude (rechts) von Feldpotential-Antworten gemessen in Schicht II unter Kontrollbedingungen (oben) und nach Applikation von 2  $\mu\text{M}$  TTX (unten). Die mit  $\times$  und  $+$  markierten Felder bezeichnen die Stimulationsorte für die in B gezeigten Feldpotential-Antworten. Die Skalen gelten für beide oberhalb gelegene Karten. B) Feldpotential-Antworten hervorgerufen durch Blitzfotolyse von verestertem Transmitter unter Kontrollbedingungen und nach Applikation von TTX an den in A mit  $\times$  und  $+$  markierten Stellen. C) Maximalamplituden der Feldpotential-Antworten gemessen in Schicht II eines weiteren Schnittpräparats unter Verwendung von ACSF mit niedriger  $\text{Ca}^{2+}$ - (0.2 mM) und hoher  $\text{Mg}^{2+}$ - (4.0 mM) Konzentration. D) Auswirkung des Wechsels von Standard-ACSF auf ACSF mit niedriger  $\text{Ca}^{2+}$ - und hoher  $\text{Mg}^{2+}$ -Konzentration auf die Feldpotential-Antworten, die durch elektrische Doppelpuls-Stimulation in den infragranulären Schichten kolumnär unterhalb der in C mit dem Stern markierten Messstelle hervorgerufen wurden. (Kötter et al., 1998).

Stimulation der Schicht IV oder der infragranulären Schichten bewirkte keinerlei Feldpotenzial-Antworten in supragranulären Schichten mehr (A, links, und C). Die korrespondierenden Latenzen von Stimulus zu maximaler Antwort unter Kontrollbedingungen wie unter TTX (A, rechts) zeigten, dass die Latenzen mit der Distanz von der Messstelle anstiegen und im Bereich von 10 - 35 ms lagen. Zusatz von TTX reduzierte die frühe Komponente der Blitz-induzierten Feldpotenzial-Antworten nahe der Messstelle und unterband alle Antworten auf Fotolyse an ferner liegenden Orten (B). Die Verwendung von künstlichem Liquor mit niedriger  $\text{Ca}^{2+}$ - und hoher  $\text{Mg}^{2+}$ -Konzentration führte zu einer deutlichen Verringerung der Doppelpuls-Inhibition und der exzitatorischen synaptischen Transmission (D).

Die Abb. 11 zeigt die typische topografische Verteilung der Latenzen vom Zeitpunkt der Stimulation bis zum Maximum der Feldpotenzial-Antwort bei simultanen Messungen in der granulären Schicht IV, als auch in den supra- und infragranulären Schichten unter Verwendung der Multi-Elektrode (Kötter et al., 1999). Die Latenzen überschwelliger Antworten wurden farbkodiert und an den jeweiligen Stimulationsorten aufgetragen. Stimulation innerhalb eines Radius von 200-300  $\mu\text{m}$  von der Messstelle rief große Feldpotenzial-Antworten mit einem klaren Maximum innerhalb von wenigen ms hervor. Außerhalb dieses engen Radius hing die Antwort sowohl vom Stimulations- als auch von der Messstelle ab. Unter Kontrollbedingungen (oben) bewirkte die Stimulation horizontal von der Messstelle keine oder schwache Antworten in den supra- oder infragranulären Schichten, jedoch eine starke und mittelschnelle (10-25 mm/s) Maximalantwort in der Schicht IV und dem direkt daran grenzenden Teil der Schicht III (zusammen als Schicht IV+ bezeichnet mit einer Dicke von ca. 400  $\mu\text{m}$ ). Bei vertikaler Anordnung von Stimulations- und Messstelle trat die Ausbreitung von der Schicht IV+ sowohl nach infragranulär (mit variabler Latenz), als auch nach supragranulär (mit 30-45 mm/s) hervor.

Nach Zugabe von 1-2  $\mu\text{M}$  des  $\text{GABA}_A$ -Rezeptor-Antagonisten BMI erweiterte sich der Radius der Aktivitätsausbreitung, doch blieben die Charakteristika der Verteilung konstant (unten). Im Vergleich zur Kontrollbedingung verbreiterten sich die Maxima der Feldpotenzial-Antworten bei geringeren Amplituden für die identischen Stimulations- und Messstellen. Die Zahl der Felder, deren Blitz-Stimulation Feldpotenzial-Antworten hervorrief, nahm deutlich zu, so dass eine umfangreichere Analyse der laminären und kolumnären Ausbreitung möglich wurde. Bei supra- oder infragranulärer Messung fand sich eine langsame (1-15 mm/s) Ausbreitung von horizontal entfernten Stimulationsorten. Die Latenzen für die horizontale Ausbreitung waren etwa dreimal so groß wie für die vertikale kolumnäre Ausbreitung über eine Distanz von 800  $\mu\text{m}$  (Anisotropie entlang des weißen Radius). Messungen in Schicht IV+ zeigten andere Merkmale: Die Feldpotenzial-Antworten waren schnell und ausgeprägt bei laminär entfernter Stimulation, aber langsam und spärlich bei kolumnärer Stimulation.

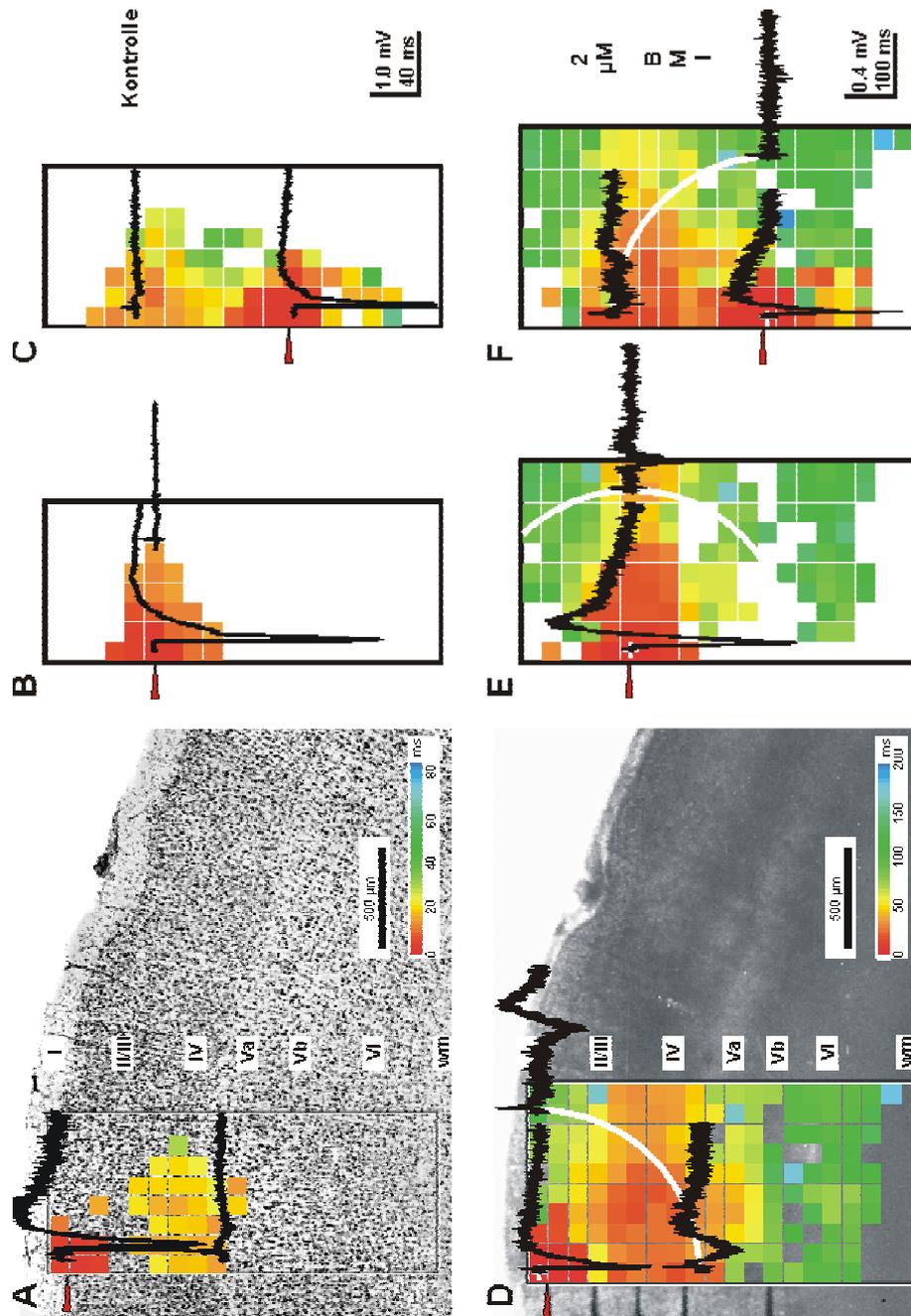
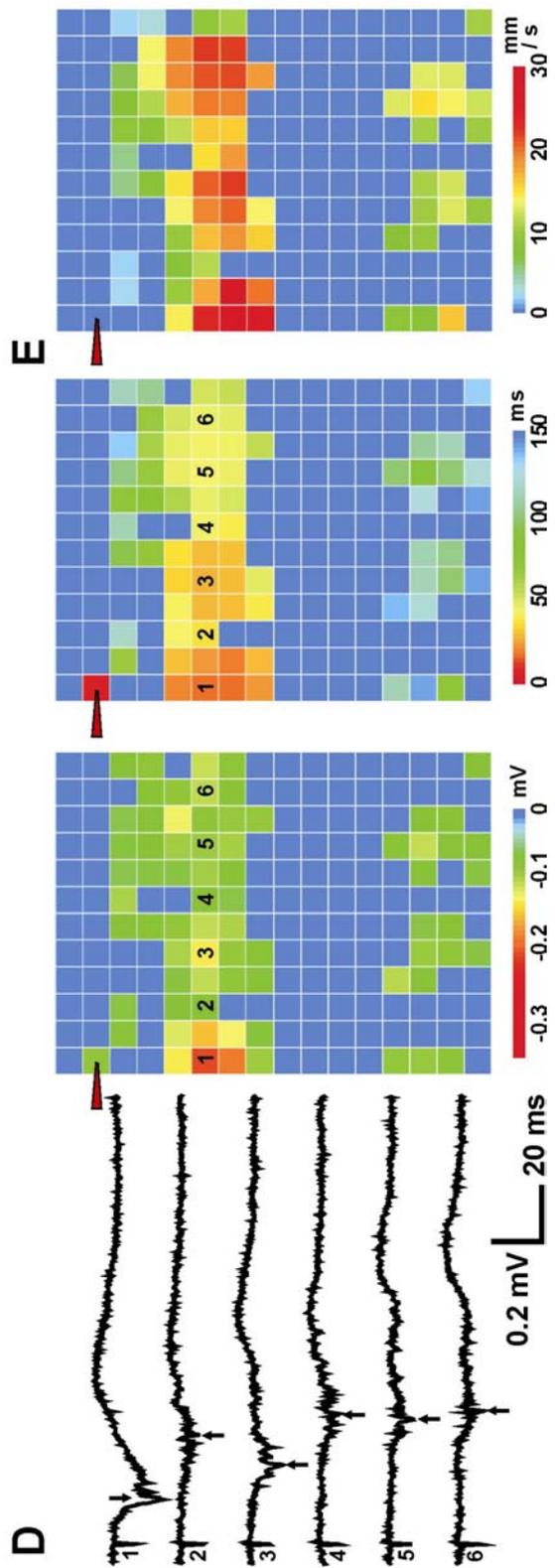
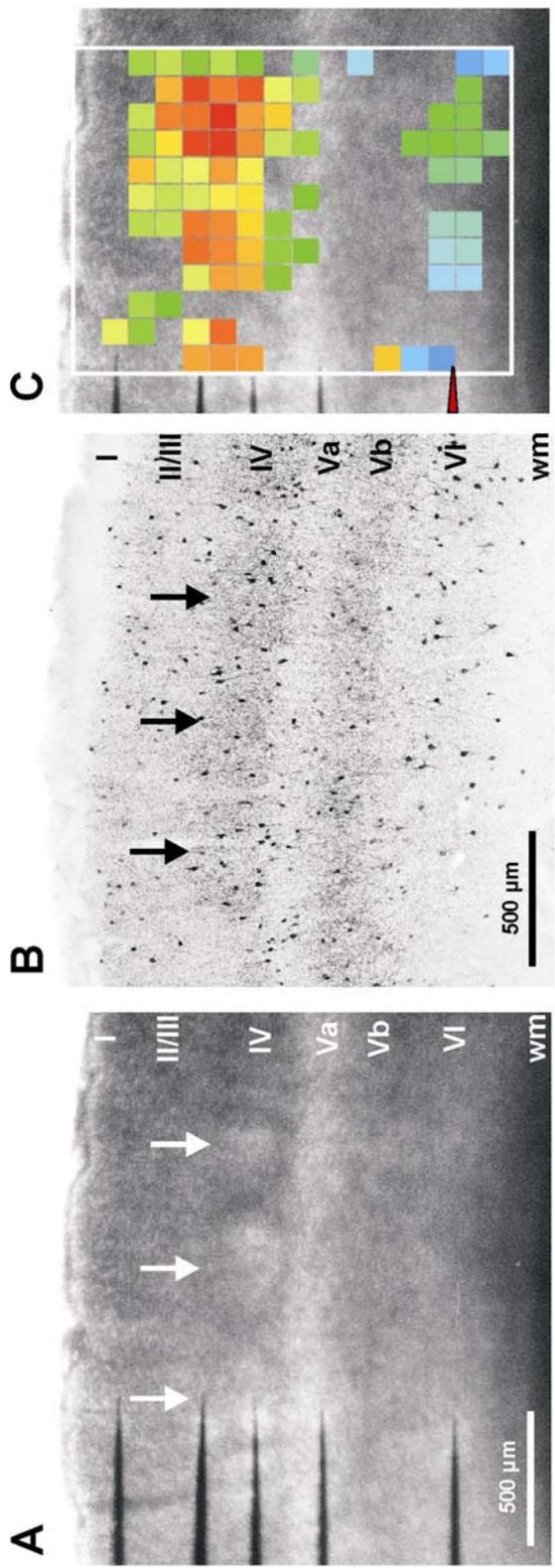


Abb. 11. Topografische Karten der Latenzen der maximalen Feldpotenzial-Antworten bei intralaminärer und kolumnärer Stimulation durch Blitzfotolyse von verestertem Glutamat im somatosensorischen Kortex der Ratte. Alle Messungen wurden im selben Schnitt durchgeführt entweder unter Kontrollbedingungen (A-C) oder bei moderater Disinhibition mit 2  $\mu\text{M}$  BMI (D-F) unter Verwendung der 5x-Multi-Elektrode zur Differenzierung der Feldpotenzial-Antworten in den supragranulären (II/III; A+D), granulären (IV; B+E) bzw. der infragranulären (V/VI; C+F) Schichten (rote Pfeilspitzen). Die Karten wurden auf den Nisslgefärbten (A) bzw. den Nativschnitt (D) überlagert zur Identifizierung der kortikalen Schichten. Die rechteckigen Rahmen begrenzen die Region, die systematisch durch fokale Glutamat-Fotolyse untersucht wurde. Der Beginn der überlagerten Beispiele von Feldpotenzial-Antworten markiert den zugehörigen Stimulations-Ort. Die weißen Bögen zeichnen einen Radius von 800  $\mu\text{m}$  um die mit dem weißen Kreuz markierte Messstelle.

Ein weiteres auffälliges Merkmal war die inhomogene Verteilung der Feldpotenzial-Antworten aller Schichten auf Stimulation der Schicht IV+ und in einigen Fällen auch der infragranulären Schichten (n=12). Die Abb. 12 zeigt ein Beispiel für die Identifikation der im Nativschnitt (A) sichtbaren aufgehellten Strukturen im Bereich der Schicht IV+ mit den „Barrels“, die durch anschließende Markierung mit Antikörpern gegen Parvalbumin dargestellt werden konnten (B). Die Überlagerung mit der topografischen Karte des funktionellen Inputs für die infragranuläre Messstelle bei 2  $\mu$ M BMI (C) zeigt eine klare Übereinstimmung zwischen den „Barrels“ und den funktionell ausgezeichneten Regionen. Diese traten ebenfalls bei Messung in den granulären oder supragranulären Schichten (D) hervor. Die Verteilung der Amplituden und Latenzen der Feldpotenzial-Antworten auf Blitz-Stimulation in Schicht IV in Abständen von 200  $\mu$ m zeigt eine deutlich nicht-lineare Entfernungsabhängigkeit. Dieses Merkmal wird besonders deutlich bei Division der Distanz zwischen Stimulations- und Messstelle durch die Latenz des Feldpotenzial-Maximums: Die rechnerischen Ausbreitungsgeschwindigkeiten spiegeln eine kolumnäre Organisation wider, die der strukturellen Organisation des somatosensorischen Kortex der Ratte in „Barrel“-assoziierte Kolumnen im Abstand von etwa 500  $\mu$ m entspricht.

Abb. 12. Lagebeziehung zwischen den anatomisch definierten „Barrels“ und den topografischen Merkmalen der Aktivitätsausbreitung im somatosensorischen Kortex der Ratte. A) das Nativbild des Gewebeschnitts ermöglicht die präzise Schichten- und Kolumnen-bezogene Positionierung der Multi-Elektrode. Die Pfeile in A - C weisen auf die „Barrels“ in der Schicht IV und der unteren Schicht III. B) Dieselbe Region des Gewebeschnittes nach Markierung mit Antikörpern gegen Parvalbumin. C) Detail aus A überlagert mit der Karte der rechnerischen Ausbreitungsgeschwindigkeit für die Messstelle in der Schicht VI unter Verwendung von 2  $\mu$ M BMI. Die Übereinstimmung der Barrels mit den Stimulationsorten, die eine hohe Ausbreitungsgeschwindigkeit besitzen, wird deutlich. Der rechteckige weiße Rahmen markiert die Region, die mit dem Rasterverfahren untersucht wurde. D) Typische Feldpotenzial-Antworten gemessen in der supragranulären Schicht II auf Stimulation entlang der Schicht IV in Abständen von 200  $\mu$ m. Die Zahlen beziehen sich auf die rechts in den Karten markierten Stimulationsorte. Die topografischen Karten der maximalen Feldpotenzial-Antworten und Latenzen vom Ort der Stimulation- zur Maximalantwort an der Messstelle zeigen eine nicht-lineare „fleckige“ Verteilung dieser Parameter in den Schichten IV und VI. E) Dieses Merkmal tritt noch deutlicher hervor in der Karte der rechnerischen Ausbreitungsgeschwindigkeit. Die Geschwindigkeits-Skala bezieht sich auf C und E.





## 2.3 Diskussion

### 2.3.1 Eigenschaften des Schnittpräparates

Elektrische Stimulation der Hirnschnitte des Barrel-Kortex führte zu Feldpotenzial-Antworten mit den typischen Merkmalen eines intakten Schnittpräparates: die intrakortikale Inhibition war gut ausgeprägt und die Feldpotenzial-Antworten zeigten keine abnorme Unterdrückung bei kurzen Interstimulus-Intervallen. Blitzfotolyse von 1 mM verestertem Glutamat in einem Feld von 100  $\mu\text{m}$  x 100  $\mu\text{m}$  nahe der Mess-Elektrode rief regelmäßig Feldpotenziale mit einer Amplitude von mehr als 1 mV hervor, die in vergleichbarer Weise auf die Verringerung des Interstimulus-Intervalls reagierten. Da mit der Verringerung des Interstimulus-Intervalls auch die Energie des Blitzes abnahm, konnte nicht untersucht werden, ob der Hirnschnitt auch höheren Stimulusfrequenzen als bei elektrischer Stimulation folgen kann.

Generell halten sich Hirnschnitte besser an der Oberfläche sogenannter Interface-Badkammern, als wenn sie vollständig in ACSF eingetaucht sind. Interface-Kammern lassen sich jedoch nur schwer in einen Infrarot-Messplatz integrieren und sind auch nicht für die Verwendung von Wasserimmersionsobjektiven geeignet. Darüber hinaus kann die kontinuierliche Rezirkulation der kleinen Menge von 5 ml ACSF die Qualität der Hirnschnitte beeinträchtigen, da die Karbogen-Versorgung beschränkt ist und metabolische Abfallprodukte nicht entfernt werden. Die Spitzenamplituden der evozierten Feldpotenziale nahmen innerhalb von zwei Stunden tatsächlich um 20% für elektrische bzw. um 10% für Blitzstimulation ab. Über diese Zeit blieb die Doppelpuls-Inhibition jedoch unverändert. Große Feldpotenziale konnten über 4-6 Stunden gemessen werden, so dass sich die Möglichkeit ergab, mehrere Versuchsbedingungen sukzessiv im selben Hirnschnitt miteinander zu vergleichen. Eine Schwierigkeit bestand in der Verdunstung von ACSF aus der Badkammer, die durch sorgfältige Kontrolle und Ersatz von destilliertem Wasser ohne offensichtliche Nebeneffekte ausgeglichen werden konnte.

### 2.3.2 Pharmakologie der Feldpotenzial-Antworten

Unter Verwendung des NMDA-Antagonisten APV kam es zu keiner signifikanten Beeinflussung der maximalen Feldpotenzial-Antworten, während die zusätzliche Applikation des AMPA-Antagonisten NBQX die Antworten beinahe vollständig unterdrückte. Dieses Ergebnis steht in voller Übereinstimmung mit der bekannten Pharmakologie der synaptischen Signalübertragung in Schnittpräparaten des Kortex (siehe Übersicht in Davies & Collingridge, 1989). Die geringfügigen persistierenden Potenziale rühren wahrscheinlich von der Aktivierung Kainat-sensitiver oder metabotroper Glutamatrezeptoren her. Die unterschiedlichen Latenzen der Feldpotenzial-Spitzen bei elektrischer bzw. Blitzstimulation können aufgrund der unterschiedlichen Stimulationsorte erklärt werden, da im ersten Fall die Aktivierung infragranulär gelegener Axone zur Glutamatfreisetzung in den supragranulären

Schichten führen kann, während im zweiten Fall Glutamat nahe der Mess-Elektrode freigesetzt wird, was die direkte Aktivierung postsynaptischer Glutamatrezeptoren bewirkt. Die frühe und späte Phase der biphasischen Feldpotenzial-Antwort auf Blitzstimulation werden unterschiedlich durch APV und NBQX beeinflusst, was auf differenzielle Beiträge von NMDA- bzw. AMPA-vermittelten Strömen schließen lässt.

### 2.3.3 Anforderungen des Blitzstimulationsverfahrens

In der Vergangenheit wurden verschiedene Lichtquellen für die Blitzfotolyse von veresterten Substanzen mit unterschiedlichen Vor- und Nachteilen eingesetzt. Kontinuierliche Lichtquellen, wie z.B. Quecksilberlampen, liefern ein geeignetes Lichtspektrum mit ausreichender Lichtintensität, benötigen jedoch zusätzlich einen mechanischen Verschlussmechanismus zur Erzeugung kurzer Lichtblitze. Solch ein Verschlussmechanismus ist ebenfalls beim Einsatz von Argon-Ionenlasern verwendet worden (Katz & Dalva, 1994). Jedoch hatten dieselben Autoren keinen Erfolg mit gepulsten Stickstofflasern für die Blitzstimulation, da die Lichtintensität entweder nicht ausreichte, um genügend Glutamat zur Erzeugung von Feldpotenzialen freizusetzen, oder so stark war, dass Zellen abgetötet wurden. Andere Autoren beschrieben einen geeigneten gepulsten Stickstofflaser, der zwar preisgünstig, jedoch nicht kommerziell erhältlich ist (Engert et al., 1996). Xenon-Blitzlampen waren zwar in der Vergangenheit bereits verwendet worden, zeigten jedoch gravierende Nachteile hinsichtlich 1) der Fokussierbarkeit des Lichtfeldes, 2) der Dauer der Wiederaufladung der Kondensatoren und 3) des Auftretens elektrischer Artefakte bei ihrer Entladung. Diese Eigenschaften sind im gegenwärtigen Versuchsaufbau erheblich verbessert worden:

1) Die minimale Größe des Stimulationsfeldes von 100  $\mu\text{m}$  Durchmesser bei Katz & Dalva war durch die Verwendung einer Irisblende vorgegeben, die sich nicht komplett schließen lässt. Die Fokussierung des Lichtfeldes ist in unserem Aufbau durch die optischen Eigenschaften des Lichtleiters und des Objektivs vorgegeben und beträgt 417  $\mu\text{m}$  unter Verwendung des 40x-Wasserimmersionsobjektivs. Dieses Feld kann jedoch beliebig beschnitten (und im Extremfall komplett verschlossen) werden durch eine rechtwinklige Blende, deren Seiten unabhängig voneinander einstellbar sind. Die Energie des Blitzes verringert sich dabei von 16 mJ am Ausgang des Lichtleiters auf weniger als 40  $\mu\text{J}$  unterhalb des 40x-Objektivs bei einer Feldgröße von 100  $\mu\text{m}$  x 100  $\mu\text{m}$ . Eine Feldgröße von 50  $\mu\text{m}$  x 50  $\mu\text{m}$  lieferte noch immer Feldpotenzial-Antworten von etwa 1 mV, was für die Erstellung von hochauflösenden Karten der funktionellen Konnektivität bei Stimulation kleiner Neuronengruppen geeignet ist. Selbst Feldgrößen von 20  $\mu\text{m}$  x 20  $\mu\text{m}$  lieferten noch sichtbare Feldpotenzialantworten und sollten bei intrazellulärer Ableitung ausreichend sein. Weitere Verbesserungen könnten erreicht werden durch den Einsatz von Materialien mit besserer UV-Durchlässigkeit oder durch Synthese von Substanzen mit

Aktivierungsmaxima, die in Richtung größerer Wellenlängen als 263 nm bei  $\gamma$ -CNB-verestertem Glutamat verschoben sind.

2) Die Zeit für die vollständige Wiederaufladung der Kondensatoren der Blitzlampe liegt für unsere Apparatur bei maximal 10 s im Vergleich zu den 30 s von Katz & Dalva. Kürzere Intervalle reduzieren die abgegebene Lichtenergie in vorhersagbarer Weise, so dass beispielsweise bei Blitzintervallen von 5 s noch ca. 80% der Maximalenergie erhalten werden. Damit lässt sich ein Bereich von 1,2 mm x 1 mm mit einer Auflösung von 100  $\mu$ m x 100  $\mu$ m flächendeckend in 10 Minuten untersuchen. Eine Aktivitätsausbreitung über größere Bereiche wird durch Reduktion der GABA-ergen Transmission erreicht, erfordert jedoch gleichzeitig eine Erhöhung der Interstimulus-Intervalle, da das neuronale Netzwerk leichter refraktär wird.

3) Schließlich verursachen die Entladung von 80 J Energie und besonders die schnellen Triggerpulse für die Zündung der Blitzlampe erhebliche Radiofrequenz-Störungen trotz des doppelt abgeschirmten Gehäuses und der optischen Kopplung des Auslösesignals. Das wichtigste Verfahren zur Bewältigung dieses Problems ist das Einfügen eines 1,5 m langen Lichtleiters zwischen der Blitzlampe und dem Epifluoreszenzeingang des Mikroskops, was in unserem Fall selbst den Einsatz eines Faraday-Käfigs erübrigt.

### 2.3.4 Funktionelle Karten der afferenten Konnektivität

Durch das systematische Rastern des Hirnschnitts bei Anwendung des optischen Stimulationsverfahrens an Hunderten benachbarter Orte entstanden Karten der funktionellen Konnektivität des in-vitro-Gewebeschnitts. Unter Kontrollbedingungen konnten Feldpotenzial-Antworten bei Stimulation von Orten in bis zu 500  $\mu$ m bilateraler Entfernung und 700  $\mu$ m vertikaler Entfernung unterhalb der supragranulären Messstelle festgestellt werden. Diese Entfernungen bedeuten, dass funktionelle Verbindungen zwischen den Barrel-assoziierten Kolumnen und zwischen den Schichten des somatosensorischen Kortex der Ratte existieren. Bei geringgradiger Herabsetzung der Inhibition mit 1  $\mu$ M des GABA<sub>A</sub>-Rezeptorantagonisten BMI ließ sich die Existenz von funktionellen Verbindungen sogar über mehrere Millimeter hinweg nachweisen. Dieser Befund entspricht den Ergebnissen von Einzelzelleableitungen bei der Stimulation einzelner Schnauzhaare und steht möglicherweise im Zusammenhang mit der Entstehung der umgebenden rezeptiven Felder im Barrel-Kortex der Ratte. Die direkte Stimulation postsynaptischer Glutamatrezeptoren (dargestellt unter Verwendung von TTX oder ACSF mit niedriger Ca<sup>2+</sup>- und hoher Mg<sup>2+</sup>-Konzentration) erzielt dagegen Feldpotenzial-Antworten nur bis zu maximalen Distanzen von 200-300  $\mu$ m, was der Ausdehnung des basalen Dendritenbaums von Pyramidenzellen im somatosensorischen Kortex bei Ratten dieser Alterstufe entspricht (Schröder & Luhmann, 1997).

Die Ausbreitungsgeschwindigkeit elektrischer Aktivität liegt nach früheren Veröffentlichungen zwischen 60 und 100 mm/s in den supra- und infragranulären Schichten des Neokortex der Ratte unter Einsatz von 1-10  $\mu$ M BMI (Chagnac-Amitai & Connors, 1989; Chervin et al., 1988; Tanifuji et al., 1994). Niedrigere Geschwindigkeiten wurden für die Übertragung zwischen den Kolumnen des „Barrel“-Kortex der Ratte in-vivo beobachtet (50 mm/s; Armstrong-James et al., 1992) und bei optischen Messungen in Gewebeschnitten des Meerschweinchen-Kortex (34-60 mm/s; Albowitz & Kuhnt, 1995). Die hier vorgelegten Messwerte sind niedriger mit bis zu 15 mm/s für supra- und infragranuläre Schichten und 10-25 mm/s zum ersten Mal für die Schicht IV des somatosensorischen Kortex der Ratte. All diese Studien stimmen jedoch darin überein, dass sich die Geschwindigkeiten in den supra- und infragranulären Schichten nicht signifikant unterscheiden. Die hier beobachteten niedrigen Ausbreitungsgeschwindigkeiten können verschiedenen Gründe haben: Während elektrische Stimulation überwiegend Axone aktiviert, die auch in der grauen Substanz eine sehr viel höhere Fortleitungsgeschwindigkeit aufweisen ( $405 \pm 127$  mm/s, Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung,  $n=17$ ; Nowak & Bullier, 1998b), wirkt die Glutamatfreisetzung auf postsynaptische Glutamatrezeptoren, die sich vor allem im somatodendritischen Bereich der Neurone befinden. Daher schließt die Glutamatfreisetzung zusätzliche biologisch relevante Faktoren ein, wie Diffusion des freigesetzten Transmitters, elektrotonische Fortleitung von exzitatorischen postsynaptischen Potenzialen (EPSPs) und neuronale Integrationszeiten, die alle durch elektrische Stimulation der Axone ausgeschaltet werden. Ein weiterer relevanter Faktor ist die Unterschiedlichkeit der Verfahren zur Bestimmung der Antwortzeiten. Diese variieren von der Division des Abstandes zweier Messstellen durch die entsprechenden Latenzunterschiede (Chervin et al., 1988; Wadman & Gutnick, 1993) bis zur Messung der Zeit vom Stimulus bis zum Beginn (Chagnac-Amitai & Connors, 1989) oder dem Maximum einer Antwort (Aroniadou-Anderjaska & Keller, 1995). Die Zeit bis zum Maximum ist leichter bestimmbar als die zum Beginn einer Antwort. Auch gibt sie Inhomogenitäten in der Überleitungszeit direkter wider als die Differenz zwischen zwei Latenzen. Die Umrechnung der Parameter, die den verschiedenen Werten zugrunde liegen ist jedoch schwierig, da das Ausmaß der Disinhibition die Zeit zwischen Beginn und Maximum einer Antwort beeinflussen kann. Die Tab. 1 zeigt, dass BMI nicht nur einen disinhibitorischen Effekt hat, sondern außerdem die Latenz zum Maximum der Feldpotenzial-Antwort konzentrationsabhängig verlängert. Der Mechanismus für diese Verlängerung ist unbekannt. Möglicherweise führt eine mäßige Unterdrückung der Inhibition durch die Rekrutierung verschiedener polysynaptischer Fortleitungswege zu einer Desynchronisierung der Stimulus-evozierten Aktivität, wodurch die synaptischen Ziele langsamer depolarisiert würden. Solch ein Mechanismus würde auch die kleineren und breiteren Amplituden der Feldpotenzial-Antworten und die Vergrößerung der Latenzen zur Maximalantwort erklären.

Tab. 1. Effekt von BMI auf die mit Blitzfotolyse von verestertem Glutamat erhaltenen Latenzen der Feldpotenzial-Antworten. Positive Latenzunterschiede bedeuten einen Anstieg der Latenzen zum Maximalwert nach BMI-Applikation. Die p-Werte wurden, wie in den Methoden beschrieben, gegen eine Population von Karten mit zufällig invertierten Latenzunterschieden berechnet.

Schnitt Nr.	Verglichene Bedingungen	Zahl der evaluierten Felder	Latenzdifferenzen MW±SA (ms)	p-Wert
1	1 µM BMI - Kontrolle	259	5.3±16.3	0.001
	2 µM BMI - Kontrolle	240	12.8±22.6	0.001
2	1 µM BMI - Kontrolle	76	2.4±3.9	0.001
3	1 µM BMI - Kontrolle	185	7.5±15.8	0.001
4	1 µM BMI - Kontrolle	50	1.1±4.2	0.041
	2 µM BMI - Kontrolle	46	4.6±7.7	0.001
5	2 µM BMI - Kontrolle	74	6.2±13.3	0.001

Die Beziehung zwischen intralaminärer und kolumnärer Aktivitätsausbreitung ist bisher kaum beachtet worden. Tanifuji und Kollegen (Tanifuji et al., 1994) fanden mit optischen Messverfahren in Gewebeschnitten des visuellen Kortex, dass die vertikale Aktivitätsausbreitung dreimal so schnell war wie die horizontale Ausbreitung. Eine ähnliche Beziehung kann aus den intralaminären und kolumnären Latenzprofilen bei Mikro-Elektrodenpenetration im „Barrel“-Kortex in-vivo errechnet werden (Armstrong-James et al., 1992). Die hier vorgelegten Daten zeigen erstmalig für die in-vitro-Situation, dass die kolumnäre Ausbreitung gerichtet verläuft, und zwar aus der Schicht IV heraus in die supra- und infragranulären Schichten, wie sie auch in-vivo beobachtet wurde (Armstrong-James et al., 1992). Dies ist ein weiterer Hinweis darauf, dass in den hier benutzten Gewebeschnitten die aus in-vivo-Tracing-Studien bekannte Konnektivität erhalten ist, und dass die Richtung der Aktivitätsausbreitung durch die Verschaltung vorgegeben ist und nicht einfach homogen und isotrop von jedem Stimulationsort ausgeht.

Die horizontalen intralaminären Verbindungen zwischen den kortikalen Funktionseinheiten werden als das anatomische Substrat der Integration von Information aus den verschiedenen Teilen der sensorischen Umgebung angesehen (Das & Gilbert, 1995; Gilbert, 1992; Gilbert & Wiesel, 1983; Martin & Whitteridge, 1984). Dennoch war es in mehreren Studien mit spannungsabhängigen Farbstoffen

nicht gelungen, eine modulare Aktivierung der kortikalen Schaltkreise unter BMI nachzuweisen (Albowitz & Kuhnt, 1993; Nelson & Katz, 1995; Tanifuji et al., 1994; Yuste et al., 1997). Chervin und Kollegen (Chervin et al., 1988) fanden Hinweise auf eine funktionelle Periodizität von etwa 1 mm, die nicht mit den „Barrel“-Distanzen von ca. 0,5 mm übereinstimmen. Trotz erheblicher Anstrengungen hatten diese Autoren keinen Erfolg beim Nachweis eines Zusammenhangs zwischen den Diskontinuitäten in der Dichte von Schicht IV und den Periodizitäten der Aktivitätsausbreitung im selben Hirnschnitt. Tatsächlich ist die Identifikation der „Barrels“ schwierig in Nissl-gefärbten Koronarschnitten, dagegen aber leicht und zuverlässig sowohl in Nativschnitten als auch nach Markierung mit Antikörpern gegen Parvalbumin.

### 3 Multivariate Analysen der Arealverbindungen

#### 3.1 Voraussetzungen

##### 3.1.1 Konnektivitätsdaten

Die Details anatomischer Verbindungen werden in der Regel dargestellt durch das Verfolgen („Tracing“) mit Substanzen, die sich innerhalb von Nervenzellen ausbreiten und dadurch die Lage der Zellkörper und Zellfortsätze markieren (Abb. 13). Man unterscheidet die direkte intrazelluläre Einbringung des Tracers zur Markierung einer einzelnen Zelle von der extrazellulären Applikation, die zur Aufnahme durch umliegende Neuronen führt und damit das Verfolgen ganzer Neuronenpopulationen erlaubt. Weithin unterscheiden sich Tracing-Verfahren nach der intrazellulären Transportrichtung, nämlich dem anterograden Transport vom Zellkörper zu den Axonterminalen und dem retrograden Transport von den Axonterminalen zum Zellkörper hin, die auch kombiniert auftreten können. Die Transportrichtung ist von Bedeutung für die anschließende Auswertung, da sich retrograd markierte Zellkörper einzeln identifizieren und damit leichter quantifizieren lassen als anterograd markierte Axonterminalen. Die weit überwiegende Zahl der Tracing-Studien ist semiquantitativ und klassifiziert die Gesamtstärke einer anatomischen Verbindung nach subjektiven Kriterien in die Kategorien stark, mittel und schwach. Schließlich unterscheiden sich die verschiedenen Tracing-Substanzen in ihrem Ausbreitungsverhalten und den notwendigen Nachweisverfahren (z.B. Fluoreszenz, Immuncytochemie, Autoradiografie), was die Genauigkeit der Darstellbarkeit beeinflusst. Spezielle Methoden, wie die Verwendung viraler Tracer, ermöglichen transsynaptischen Transport und eignen sich daher, um nicht nur direkte Projektionen, sondern auch Neuronenketten darzustellen.

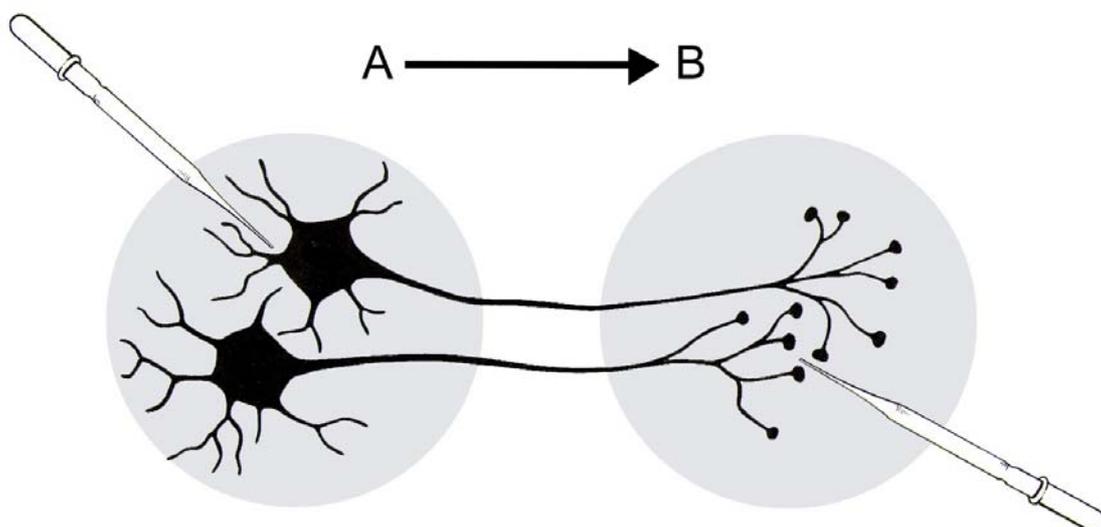


Abb. 13. Prinzip anterograder (links) und retrograder (rechts) Tracing-Methoden.

Neben den durch anterograde und retrograde Tracing-Methoden erhaltenen Daten liegen insbesondere experimentelle und klinische Studien der postläsionalen Degeneration von Faserbahnen vor. Diese werden jedoch aufgrund der schwierigen Dosierbarkeit, der eventuellen Wirkung auf durchziehende Nervenfasern und der Möglichkeit von transneuronaler Degeneration und Kompensationseffekten als weniger verlässlich eingestuft. Auch indirekte Verfahren sind zum Nachweis anatomischer Konnektivität eingesetzt worden, wie z.B. die Strychnin-Neuronografie, die ortho- und antidrome elektrische Stimulation und die diffusionsgewichtete Magnetresonanz-Bildgebung. Allein die Strychnin-Neuronografie (Dusser de Barenne & McCulloch, 1938; Dusser de Barenne & McCulloch, 1939), die in der ersten Hälfte des 20. Jahrhundert sehr weit verbreitet war und dann durch die elektrische Stimulation verdrängt wurde, hat bislang eine nahezu vollständige Kartierung kortikaler funktioneller Konnektivität geliefert (Stephan et al., 2000a). Dazu wurde eine hochkonzentrierte Strychninlösung auf oder in umschriebene Kortexregionen appliziert (Abb. 14). Die Blockade der dort vorhandenen inhibitorischen Glyzin- und GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren bewirkt (ähnlich der Penizillin-Applikation) eine starke lokale Disinhibition (Klee et al., 1992; Shirasaki et al., 1991; Takahashi et al., 1994), die über einen Zeitraum von 15-30 min reversible, aber reproduzierbare und stabile epileptiforme elektrische Potenziale in weiteren kortikalen Regionen hervorruft (Dusser de Barenne et al., 1938).

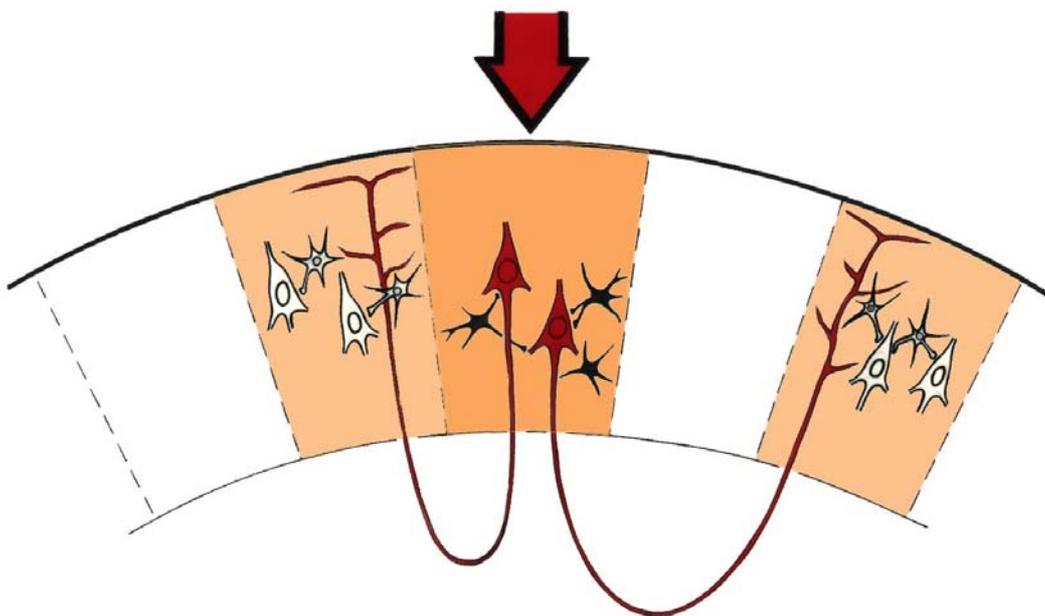


Abb. 14. Prinzip der Strychnin-Neuronografie. Applikation gesättigter Strychninlösung (Pfeil) disinhibiert die lokale Neuronenpopulation und führt zu epileptiformer Aktivität, die sich über Assoziationsfasern selektiv im Kortex ausbreitet.

Die topografische Ausdehnung dieser fortgeleiteten Aktivität ist in schematischen Zeichnungen festgehalten und als Nachweis efferenter Projektionen interpretiert worden (Dusser de Barenne & McCulloch, 1939; Frankenhaeuser, 1951; McLean & Pribram, 1953). Aus der Gegenüberstellung von anatomischem Tracing und funktioneller Strychnin-Neuronografie lassen sich daher globale kortikale Struktur-Funktionsbeziehungen mit dem gegenwärtig umfangreichsten und detailliertesten Datenmaterial untersuchen. Als Nebeneffekt ist eine Evaluierung des Neuronografieverfahrens für den Nachweis monosynaptischer Verbindungen möglich (siehe 4.1).

Trotz der methodischen Einschränkungen und der Schwierigkeiten der Quantifizierung sind Konnektivitätsdaten auf der relativ groben Ebene der Verbindungen zwischen makroskopischen Gehirnstrukturen vom Konzept her relativ einfach und genau erfassbar. Dies liegt daran, dass unter der Vielzahl von Neuronentypen und Verbindungsmustern nur die exzitatorischen Pyramidenzellen Axone von einer Länge besitzen, die ausreicht, um verschiedene, insbesondere nicht unmittelbar benachbarte, Areale miteinander zu verbinden. Von solchen langreichweitigen Verbindungen werden traditionell drei Arten unterschieden: Assoziationsfasern, die verschiedene Areale einer Hemisphäre verbinden; Kommissurenfasern, die zwischen den beiden Hemisphären des Kortex vermitteln; und Projektionsfasern, die zwischen Kortex und extrakortikalen Strukturen projizieren. Die hier beschriebenen Untersuchungen beziehen sich in erster Linie auf Assoziationsfasern. Kommissurenfasern sind in relativ wenigen Fällen experimentell untersucht worden, aber auch Unterschiede zwischen den beiden Hemisphären in den jeweiligen Assoziationsfasern sind nicht systematisch erhoben worden. Die Untersuchung der Projektionsfasern reicht über das Thema der vorliegenden Arbeit hinaus.

Organisationsprinzipien der Projektionsfasern spiegeln sich außerdem in der weiteren Unterteilung der Assoziationsfasern wider: in Analogie zu der Präferenz der Axonterminalen thalamokortikaler Projektionen für die Schicht IV ihres Zielareals werden Assoziationsfaser-Verbindungen als Vorwärtsprojektionen bezeichnet, wenn ihre Terminalen ebenfalls die Schicht IV bevorzugen, dagegen als Rückwärtsprojektionen, wenn sie die Schicht IV vermeiden, oder als Seitwärtsprojektionen, wenn sie kolumnär ohne Schichtenpräferenz enden (Rockland & Pandya, 1979). Dieses Prinzip lässt sich zur Erstellung mutmaßlicher hierarchischer Anordnungen kortikaler Areale verwenden und ist Anlass kontroverser Diskussionen über die Bedeutung hierarchischer anatomischer Projektionssysteme für den Ablauf kortikaler Informationsverarbeitungsprozesse (Felleman & Van Essen, 1991; Hilgetag et al., 1996; Petroni et al., 2001; Scannell et al., 1999).

### 3.1.2 Kortikale Karten

Die Beschreibung der inter-arealen Konnektivität setzt eine Definition der kortikalen Areale voraus, die als Ausgangs- und Zielregionen genannt werden. Die Abgrenzung und Lagebeschreibung kortikaler Areale wird seit mehr als 100 Jahren kontrovers diskutiert und ist noch immer nicht abgeschlossen. Grundsätzlich werden drei verschiedene Verfahren zur Arealbeschreibung benutzt: Raumkoordinaten, topografische Lage relativ zu makroskopischen Landmarken und mikrostrukturelle Abgrenzung. Die Definition mithilfe räumlicher Koordinaten hat den Vorteil der objektiven Beschreibung frei von anatomischen Konzepten, unterliegt jedoch dem Problem der Abbildung unterschiedlicher Individualgehirne aufeinander und ist bei Tracing-Studien aufgrund des Aufwands für die dreidimensionale Rekonstruktion der jeweiligen Gehirne nur in sehr wenigen Ausnahmefällen durchgeführt worden. Die alternative Beschreibung der Lage kortikaler Regionen relativ zu kortikalen Landmarken, wie Gyri und Sulci, ist sehr ungenau, da diese Landmarken, ebenso wie ihre relative Lage zu histologisch verifizierten Arealen, sehr variabel sein können (z.B. Amunts et al., 2000; Rademacher et al., 2001). Die übliche Vorgehensweise, nämlich die mikrostrukturelle Abgrenzung von Ausgangs- und Zielgebieten als kortikale Areale, birgt aber eigene Probleme. So werden zur Abgrenzung der Areale unterschiedliche histologische, histochemische, elektrophysiologische, metabolische oder funktionelle Methoden verwendet, die zu unterschiedlichen Abgrenzungen geführt haben (siehe Zilles & Clarke, 1997). Darüber hinaus ist die Auswertung jeder einzelnen Methode in der Regel beobachterabhängig, was eine weitere Quelle der Variabilität bedeutet. Dementsprechend sind inter-areale Verbindungen selbst bei derselben Spezies in vielen unterschiedlichen kortikalen Karten notiert worden, deren räumliche Zuordnung mit Unsicherheiten behaftet ist.

Konnektivität und Definition der Areale sind zudem keine evolutionären Konstanten, sondern hängen von den untersuchten Spezies ab. Die vorliegenden Untersuchungen der interarealen Verbindungen sind spezifisch für Altweltaffen des Genus *Macaca* mit seinen sehr ähnlichen Spezies (*Macaca mulatta* [=Rhesus-Affe], *M. fascicularis*, *M. nemestrina*, *M. fuscata*, etc.) (Tab. 2). Die Wahl von Makaken begründet sich einerseits mit der großen Anzahl der zu diesem Genus vorliegenden Konnektivitätsstudien, andererseits mit dessen evolutionären Nähe zum Menschen. Erstere ist Voraussetzung für eine systematische Übersicht und valide Aussagen über inter-areale Konnektivität, letztere ergibt sich aus dem wissenschaftlichen und klinischen Interesse am Gehirn des Menschen und der rapiden Zunahme funktioneller bildgebender Untersuchungen, deren Interpretation auf eine genaue Kenntnis der zugrunde liegenden Konnektivität angewiesen ist (z.B. Büchel & Friston, 1997; McIntosh & Gonzalez-Lima, 1994). Da die detaillierte Untersuchung der Assoziationsfasern in großen Gehirnen in der Regel die intra-vitale Applikation zum Transport der Tracersubstanz und die histologische Aufarbeitung des Gehirns nach definierten Überlebenszeiten erfordert, wird sie bei solchen Tierarten durchgeführt,

deren Gehirn als ein Modell für die entsprechenden Aspekte des menschlichen Gehirns angesehen wird und deren Bestand durch dieses Vorgehen nicht gefährdet ist. Durch die systematische Aufarbeitung dieser publizierten Daten in geeigneten Datenbanken wird nicht nur die Durchführung unnötiger Untersuchungen vermieden, sondern werden ihre Nutzung erleichtert, ihre Vergleichbarkeit erhöht und die globale Zusammenschau überhaupt erst ermöglicht.

Tab. 2. Spezies des Genus *Macaca* aus der Taxonomie-Datenbank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbin-post/Taxonomy/wgetorg>). Die komplette Abstammungslinie lautet: Eukaryota; Metazoa; Chordata; Craniata; Vertebrata; Euteleostomi; Mammalia; Eutheria; Primates; Catarrhini; Cercopithecidae; Cercopithecinae; *Macaca*.

### **Spezies (gewöhnliche englische Bezeichnung)**

---

- *Macaca arctoides* (stump-tailed macaque)
  - *Macaca assamensis* (Assam macaque)
  - *Macaca brunnescens*
  - *Macaca cyclopis* (Taiwan macaque)
  - *Macaca fascicularis* (crab-eating macaque)
  - *Macaca fuscata* (Japanese macaque)
  - *Macaca hecki*
  - *Macaca maura* (moor macaque)
  - *Macaca mulatta* (rhesus monkey)
  - *Macaca nemestrina* (pig-tailed macaque)
  - *Macaca nigra* (Celebes crested macaque)
  - *Macaca nigrescens*
  - *Macaca ochreata* (booted macaque)
  - *Macaca radiata* (bonnet macaque)
  - *Macaca silenus* (liontail macaque)
  - *Macaca sinica* (toque macaque)
  - *Macaca speciosa* (stump-tail macaque)
  - *Macaca sylvanus* (Barbary ape)
  - *Macaca thibetana* (Pere David's macaque)
  - *Macaca tonkeana* (Tonkean macaque)
- 

### 3.1.3 Die CoCoMac-Datenbank der Konnektivitätsdaten

Die Ergebnisse vieler Konnektivitätsstudien sind immer wieder in schematischen Zeichnungen und in Tabellen zusammengestellt worden (z.B. Felleman & Van Essen, 1991; McLean & Pribram, 1953; Scannell et al., 1995; von Bonin & Bailey, 1947; Young, 1992; Young, 1993) (Abb. 15).

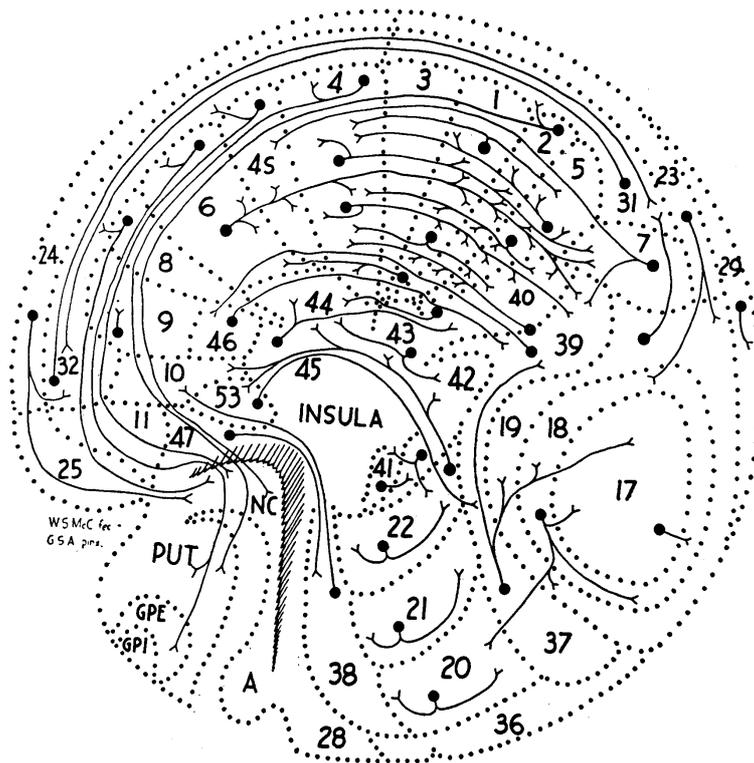


Abb. 15. Zusammenfassung kortikaler Assoziationsfasern nach McCulloch (von Bonin & Bailey, 1947, Fig. 39, S. 81).

Die kompakteste und abstrakteste Form solcher Zusammenstellungen ist die Konnektivitätsmatrix (siehe Abb. 16 für anatomische und Abb. 17 für funktionelle Daten). Dies ist eine Tabelle, in der die Ausgangsareale gegen die Zielareale aufgetragen sind, und an deren Schnittpunkten der Status der jeweiligen Projektion bzw. Interaktion abgelesen werden kann. Solche Matrizen sind sehr übersichtlich und bilden den idealen Ausgangspunkt für weiterführende Konnektivitätsanalysen. Voraussetzung ist, dass die Einträge zutreffend und miteinander vergleichbar sind. Konnektivitätsdaten sind aber zunächst sehr vielfältig: Sie werden nicht nur an unterschiedlichen Gehirnen und mit unterschiedlichen Methoden erhoben, sondern unterliegen auch einer Beobachterabhängigkeit hinsichtlich der Kriterien für Existenz, Ausmaß und Stärke einer Verbindung, der Definitionen der betreffenden kortikalen Areale, der Präzision der Beschreibung der Befunde und der Anzahl übereinstimmender oder widersprüchlicher Befunde. Die Erfassung dieser und weiterer Detailinformationen geschieht am besten in Form von elektronischen Datenbanken, mit deren Hilfe die Daten systematisch und effizient abgelegt, zugeordnet und ausgewertet werden können. Durch die Anbindung von Datenbanken an das World-Wide-Web können diese Informationen außerdem anderen Interessenten leicht zugänglich gemacht werden (siehe z.B. Chicurel, 2000).

		Ziel-Areal											
		W10	W11	W12	W13	W14	W24	W25	W45	W46	W8A	W8B	W9
Ausgangs-Areal	W10		2	2	1	2	X	2	0	0	X	0	3
	W11	1		1	1	X	X	X		0	0	0	3
	W12	2	3		1	3	1	2	0	X	X	X	2
	W13	1	X	2		2	1	X	0	0	0	X	X
	W14	1	X	X	1		X	1	0	0	0	0	X
	W24	0	X	1	0	X		3	1	1	1	3	3
	W25	2	X	2	2	3	3		0	X	0	X	2
	W45	1	3	2	1	1	1	0		X	2	X	X
	W46	3	X	X	0	0	1	1	2		X	3	X
	W8A	X	0	2	0	0	1	0	2	X			X
	W8B						3			X	X		X
	W9	X	X	X	1	0	3	X	X	X	X	X	

Abb. 16. Anatomische Konnektivitätsmatrix im Parzellierungsschema von Walker (1940) bestimmt durch Tracing-Studien des Frontalkortex. Verbindungsstärken sind folgendermaßen kodiert: 0 = kein Transport nach Tracer-Injektion; 1 = schwache/spärliche, 2 = mittelstarke, 3 = starke/dichte Markierung; X = existierende Verbindung unbekannter Stärke; leere Felder = keine Angaben.

Sobald Daten nicht nur erfasst, sondern zur Erfassung auch klassifiziert werden, stellt sich das Problem der Subjektivität ihrer Beurteilung. Beurteilung findet nicht nur beim Vergleich qualitativer Daten statt, sondern auch bei der Auswahl der zu erfassenden Parameter, die möglicherweise die Ausprägung der erhobenen Daten beeinflussen haben könnten. Dieses Problem ist relativ gering bei Genom- oder Proteindatenbanken, wo es um die Speicherung der Sequenzen von Basenpaaren oder Aminosäuren geht; es ist massiv dagegen, wo die Manipulation mentaler Zustände die Aktivierung von Hirnregionen beeinflusst, wie etwa bei der systematischen Erfassung von Studien zur funktionellen Bildgebung durch die BrainMap-Datenbank (<http://ric.uthscsa.edu/projects/brainmap.html>) für positronenemissionstomografische Studien oder fMRIDC ([www.fmridc.org](http://www.fmridc.org)) für magnetresonanztomografische Studien. Bei der Erhebung von Konnektivitätsdaten ist das Ausmaß der subjektiven Einflüsse geringer, aber doch vorhanden und unvermeidbar; diese müssen so weit wie möglich reduziert und jedenfalls nachvollziehbar dokumentiert sein.

Die hier vorgestellte Konnektivitätsdatenbank des Makakengehirns („CoCoMac“ – Collation of Connectivity data on the Macaque brain; <http://www.cocomac.org>) ist die weltweit umfangreichste Datenbank publizierter Verbindungsdaten bei Primaten. Sie beruht auf der Auswertung von Originalarbeiten und hält neben den eigentlichen Verbindungsdaten Angaben zu der Literaturstelle, den Versuchstieren, den experimentellen Methoden und den verwendeten Hirnkarten originalgetreu fest.

gemessene Areale →

↓ stimulierte Areale

	EA	FB	FBA	FCBm	FCop	8A	8B	9	10	11	12	13	14	45	46	IA	IB	LA	LC	FL	PB	PC	PCop	PEm	PEp	PF	PG	TA	TB	TC	TE	TEO	TF	TG	TH	A	OA	OB	OC		
EA	X																					X		X	X	X	X														
FB	X	X													X			X	X			X		X	X	X	X					X						X	X		
FBA			X																																						
FCBm	X	X		X																		X	X	X	X	X	X					X						X			
FCop	X			X									X			X							X																		
8A					X																																				
8B						X																																			
9							X																																		
10								X					X						X	X									0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
11									X																																
12										X																															
13	0	X		X	X	0	0	0	0	0	0	0				3	0	0	0	0	1	0	X					X					X	3	0	X					
14																																									
45	X	0																				0	0	0	0	0	0	0										0	0	0	
46	0	2	1	1		0	0					1		2								0	0	3	1	3	1	0				X						1	0		
IA	0	0	0	0	X	0	0	0	0	0	0	X	0	0						1		0	0	0	0	0	0				0	0	X	X	0	X					
IB	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	X				0	0	X		0	0	0	0	X			0	0	0	0	0	0	0	0			
LA	0	X				0	0	0	0	0	0	0	0	0	0						0	0	0	X		0					0	0	0	0				0	0	0	
LC	0	0				0	0					X	0	X						0		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	X	X	X	0	X	0	0	0	0	
FL	0	0	0	0	0	0	0		X	X		X	0	0	0					0	0										0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
PB	2	0	2	3	0		0	0	0	0												3	1	2	0	2	1	1				0	0	0	0			0	0	0	
PC	X	X		X																				X		X	X														
PCop	0	0		0	0	0																0		0	0	0	0	0	X												
PEm	3	1	0	0	0		0	0	0	0			X	1								1	0		1	1	2	1			1	1		0			1	1	1		
PEp	2	2	0	0																X	0		1	0	3		0	0			0	0	0	0	0	0	0	3	3	1	
PF	3	1	2	3	0							0	1	2								3	0	1	0		3	1			0	1		0				2	2	1	
PG	1	1	1	0	0	0	0					0	1	1								1	0	2	0	1		1			0	X		0			1	2	1		
TA	0	0	0	1	X	0	0					0	0	1								0	X	0	0	1	0			X	3	2		2			1	1	1		
TB	X	0				0	0									X	0								0	0	0	X			X	X	0	0	0	0	0	0	X	0	
TC	0	0				0	0																					X	0		X								0	0	0
TE	0	0	0	0	0									2	X							0	0	0	X	2	X	X		X		0	X	1	X		X	X	1		
TEO	0	0		0	0																		0	0	0	X	0	X				3		X	0	0			X	X	0
TF	0	0	0	0	0															X	0		0	0	0	0	0	X			3	3			0	0	X	X	0	0	
TG	0	0	0	0								X	0	0	X																	0	0	X		X	X	0	0		
TH	0		0	0																															3		X		0	0	
A						0	0	0	0	0						X	0														X	0	3	3	X						
OA	0	0	0	0	0	0	0																0	1	0	2	1	X			3	X							3	3	
OB	0	0		0	0	0																	0	0	0	0	0	X	0	0	0	X	0	X	X	0	X	3		3	
OC	0																									0	0	0												0	X

Abb. 17. Funktionelle Interaktionsmatrix bestimmt durch Strychnin-Neuronografie des Makakenkortex in der kombinierten Hirnkarte nach Walker (1940) für den Frontalkortex und von Bonin & Bailey (1947) für den übrigen Kortex. Aktivitätsfortleitung ist folgendermaßen kodiert: 0 = keine, 1 = schwache, 2 = mittelstarke, 3 = starke Fortleitung; X = bestehende Fortleitung unbekannter Intensität; leere Felder = keine Angaben. Siehe Abb. 22 für die Nomenklatur der Areale. (Stephan et al., 2000a).

Klassifikationen werden vorgenommen zur Erfassung der Stärke von Verbindungen („strength code“ – 0 = abwesend, 1 = schwach, 2 = mittel, 3 = stark, X = existent aber unbekannt), zum Umfang der Beteiligung von Ausgangs- und Zielarealen („extension code“ – N = nicht, P = partiell, X = existent, C = komplett; Abb. 18) und der laminären Anordnung der Verbindungen in diesen Arealen („layer code“, 0, 1, 2, 3, X, ? als Verbindungsstärke für jede Schicht; M zur Kodierung multipler laminärer Muster). Zusätzliche Verfahren sind zur Kodierung der Präzision der vorliegenden Daten und zur Verwendung der Arealinformationen notwendig. Die Dokumentation der Präzision erfolgt mit Hilfe von standardisierten Codes für die Klarheit und

Eindeutigkeit der originalen Beschreibungen in Text und Bild, die nicht mit Angaben über die inhaltliche Qualität der publizierten Arbeit verwechselt werden dürfen. Solche Präzisionscodes werden vergeben für die Beschreibung der Ausgangs- und Zielareale, das Ausmaß ihrer Beteiligung, die Stärke der Projektion, die laminäre Verteilung der Projektion und für die Relationen zwischen Arealen in unterschiedlichen Karten. Sie sind wichtig bei der Definition von Vertrauensbereichen für die Verwendung der Daten insbesondere bei widersprüchlichen Angaben. Die Behandlung der Arealinformationen wird in Abschnitt 3.1.4 ausführlich beschrieben.

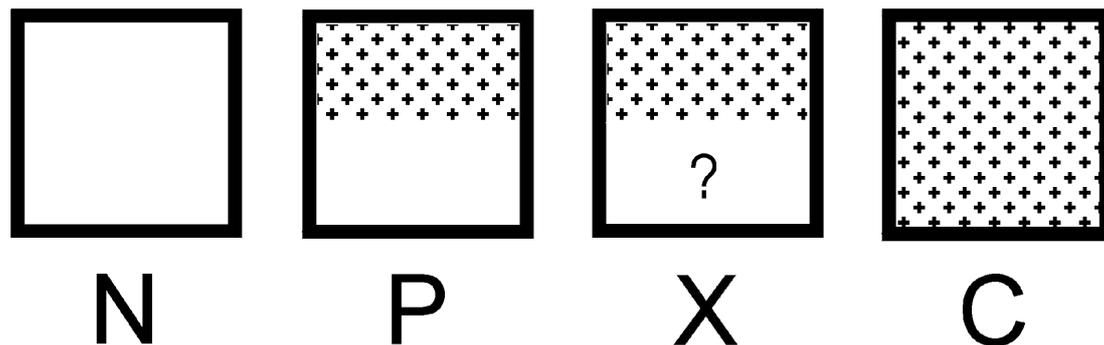


Abb. 18. Kodierung des Ausmaß der Markierung eines Areals („extension code“). N = keine, P = partielle, X = partielle oder komplette, C = komplette Markierung. Diese schematische Darstellung entspricht der zweidimensionalen Aufsicht auf ein Kortexareal und berücksichtigt daher nicht die Beiträge der verschiedenen Schichten zu dem Ausmaß der Markierung (Stephan et al., 2000b).

Die Datenbank der anatomischen Projektionen („CoCoMac-Tracer“) umfasst derzeit mehr als 20.000 Konnektivitätsangaben aus mehr als 280 Publikationen. Die Daten werden in Informationen zur Literaturstelle, zu den verwendeten Gehirnkarten („BrainMaps“) und zu den Methoden und Befunden des Tracing („Methods“, „Injections“, „LabelledSites“) gegliedert und in einer relationalen Datenbank (MS Access) abgelegt (Abb. 19).

Eine komplementäre Datenbank funktioneller Konnektivität aufgrund neuronografisch bestimmter Aktivitätsausbreitung im Makakenkortex („CoCoMac-Stry“; Stephan et al., 2000a) ist abgeschlossen mit 3897 Konnektivitätsangaben aus 19 Artikeln (Bailey et al., 1943a; Bailey et al., 1944a; Bailey et al., 1943b; Bailey et al., 1944b; Chusid et al., 1948; Dunsmore & Lennox, 1950; Dusser de Barenne & McCulloch, 1938; Dusser de Barenne et al., 1938; Dusser de Barenne et al., 1941; French et al., 1948; Petr et al., 1949; Pribram et al., 1950; Pribram & MacLean, 1953; Sugar et al., 1948; Sugar et al., 1950a; Sugar et al., 1950b; Sugar et al., 1950c; von Bonin et al., 1942; Ward et al., 1946). Eine Zusammenfassung der verfügbaren Daten ist in Abb. 17 gezeigt.

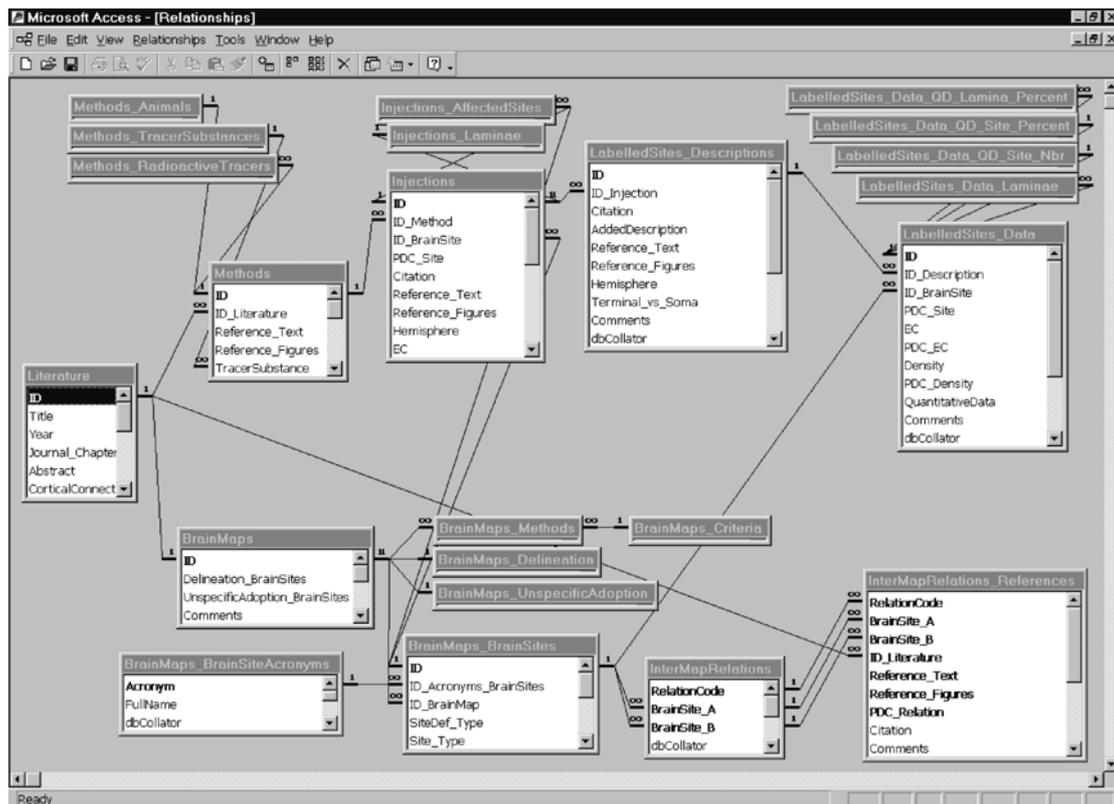


Abb. 19. Tabellenübersicht aus CoCoMac.

### 3.1.4 Algorithmische Transformation von Konnektivitätsdaten

Zur Speicherung der Angaben über die Ausgangs- und Zielareale verwenden alle bisher publizierten Datensammlungen ihr festes vordefiniertes Parzellierungsschema, eine willkürlich ausgewählte Karte, in die Daten aus den publizierten Originalkarten vom Ersteller der Datenbank nach seinen persönlichen Kriterien übersetzt wurden. Dieser subjektive Schritt der Übersetzung ist unvermeidbar, wenn Daten, die in verschiedenen kortikalen Karten notiert wurden, miteinander in Beziehung gesetzt werden sollen. Eine Besonderheit der vorliegenden Datenbank ist jedoch, dass die Speicherung der publizierten Daten in der Nomenklatur der dort verwendeten Originalkarten erfolgt, während die Übersetzung der Daten später als separater Schritt unabhängig von früheren Präferenzen durchgeführt werden kann. Eine weitere Besonderheit ist, dass der Übersetzungsprozess algorithmisch erfolgt und damit beobachterunabhängig (objektiv) ist. Subjektiv bleibt nach wie vor die Zuordnung zwischen entsprechenden Arealen in verschiedenen kortikalen Karten, doch lassen sich diese Informationen ebenso wie die Konnektivitätsdaten direkt aus der Literatur gewinnen und mit Datenbankverfahren aufarbeiten. Dieses Vorgehen setzt voraus, dass jeder Autor, der eine neue (oder modifizierte) kortikale Karte verwendet, diese in Relation zu mindestens einer bereits bekannten Karte setzt. Die Relation zweier Areale in verschiedenen Karten lässt sich dann aufgrund der Art ihrer topografischen Beziehung logisch kodieren („relation code“ – I = identisch, S = umgrenzter, L =

umfassender, O = überlappend, D = disjunkt; Abb. 20). Ebenso wird die Präzision dieser Zuordnung durch einen entsprechenden Präzisionskode beschrieben.

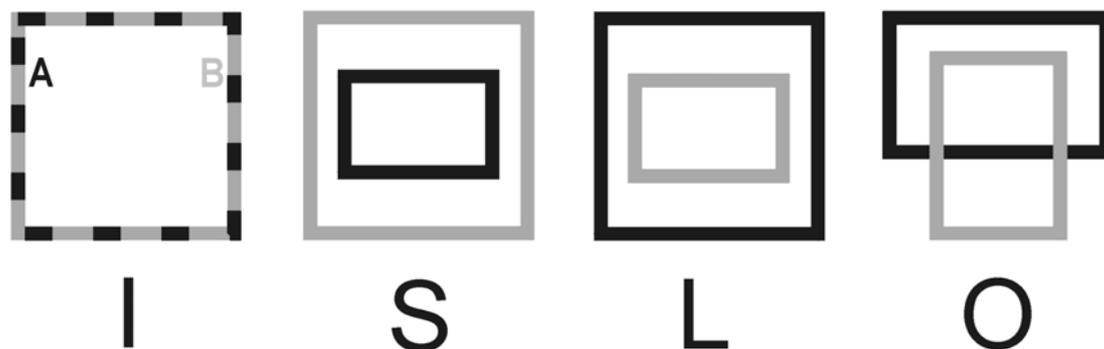


Abb. 20. Kodierung der Arealbeziehungen zwischen verschiedenen Karten („relation code“). Nach Überlagerung zweier verschiedener Karten lässt sich die Relation zwischen zwei Arealen A und B aus je einer Karte ablesen. Mögliche Relationen in der zweidimensionalen Aufsicht sind: A und B sind identisch (I); A ist in B enthalten (S) oder umgekehrt (L); die beiden Areale überlappen sich (O) oder sind disjunkt (nicht gezeigt). (Stephan et al., 2000b).

Die Übersetzung der Daten aus den verschiedenen Ausgangskarten in die gewählte Zielkarte setzt nun voraus, dass die Relationen der Areale (sowohl der Ausgangs- als auch der Zielareale) zwischen diesen Karten bekannt sind. Selbst wenn in der Literatur keine direkte Relation angegeben wurde, ist es mit grafentheoretischen Methoden in vielen Fällen möglich, mindestens einen Übersetzungsweg von der jeweiligen Ausgangskarte über verschiedene Zwischenkarten in die Zielkarte zu finden (Abb. 21A). Dabei muss jedoch berücksichtigt werden, dass das Ausmaß einer Projektion (und auch ihre Stärke) mit der verwendeten Karte variieren und dass das Fehlen räumlicher Koordinaten bei bestimmten Übersetzungswegen zu nicht-eindeutigen Ergebnissen führen kann. Darüber hinaus sind nicht alle eindeutigen Übersetzungswege gleichwertig, wenn man die Präzisionskodes der zugehörigen Relationen berücksichtigt. Die Bestimmung optimaler Übersetzungswegen, die mit hoher Präzision gültige Arealinformationen liefern, wird erreicht durch das neu entwickelte Verfahren der optimierten „Objektiven Relationalen Transformation“ (ORT; Stephan et al., 2000b). Der Übersetzungsprozess eines jeden Areals kann demnach dargestellt werden als eine Sequenz von Relationsschritten, wobei jeder Schritt den Übersetzungsprozess in einen von mehreren definierten Zuständen überführt, die entsprechend einer Wertigkeitsskala klassifiziert werden (Abb. 21B). Sind alle Sequenzen abgearbeitet, so lässt sich unter allen möglichen Übersetzungswegen der Endzustand mit der höchsten Wertigkeit auswählen, der dann der definitiven Übersetzung zugrunde gelegt wird. Dieser Prozess ist besonders zeitaufwendig (Komplexität  $O=n^2 \cdot \log(n)$ ) und nimmt bei der gegenwärtigen Implementation und Datenmenge auf einem schnellen PC mehr als zwei Monate in Anspruch.

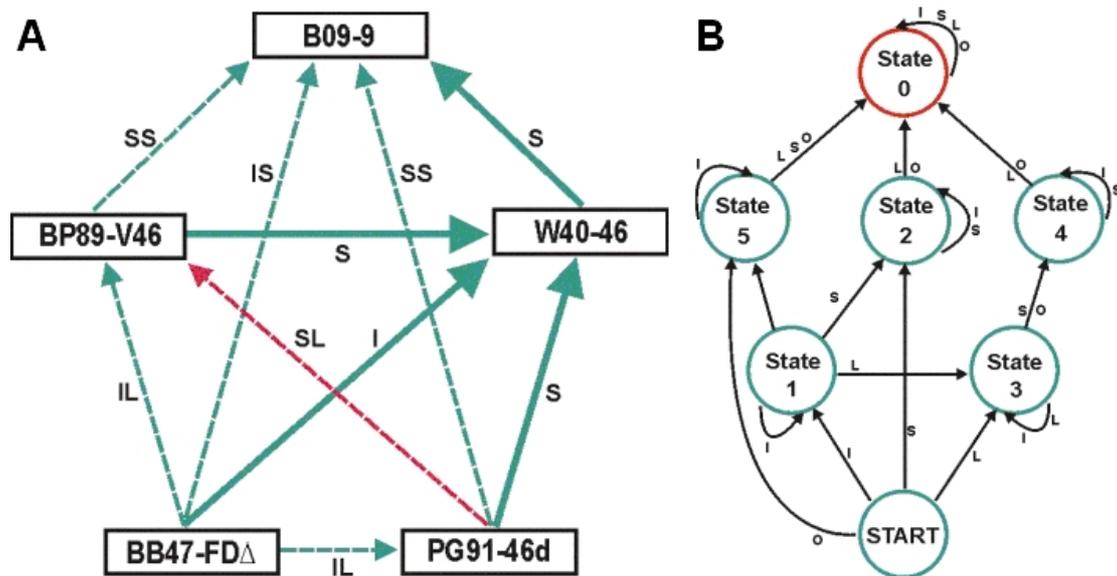


Abb. 21. Schematische Darstellung der Übersetzung koordinatenfreier kortikaler Daten mittels Objektiver Relationaler Transformation. A) Inferenz von Übersetzungswegen. Durchgehende Pfeile markieren dokumentierte Relationen aus der Originalliteratur zwischen den Arealen des lateralen Präfrontalkortex bei verschiedenen Autoren. Unterbrochene Pfeile bedeuten inferierte Relationen. Grüne Inferenzen sind zulässig, die rote ist unzulässig, da diese Relationsfolge ohne Zusatzinformation kein logisch eindeutiges Übersetzungsergebnis liefert. B) Automatendarstellung zur Evaluation der sequenziellen Relationschritte. Grüne Kreise markieren gültige Zustände („state“) mit steigender Ungenauigkeit (Nummer), rot („state 0“) ist der ungültige Zustand. Am Start beginnend führt jede Abfolge von Relationen zu genau einem Zustand. (Modifiziert nach Stephan et al., 2000b).

Als Zielkarten sind für globale Fragestellungen die klassischen Parzellierungsschemata von McCulloch (1944) und von Bonin & Bailey (1947) besonders interessant. Walker (1940) lieferte ein Parzellierungsschema des Frontalkortex, das auch heute häufig verwendet wird, oftmals in Kombination mit der von Bonin & Bailey-Karte für den übrigen Kortex (Abb. 22; siehe auch Logothetis, 1998). Moderne anatomische Arbeiten beschreiben detailliertere Karten für ausgewählte Kortexregionen z.B. für den präfrontalen Kortex (Carmichael & Price, 1994), für den motorischen Kortex (Luppino et al., 1993) oder für den visuellen Kortex (Felleman & Van Essen, 1991), die für Detailanalysen der betreffenden Kortexregion sinnvoll sind. Die Datenbank verfügt über einen Vorrat von über 200 solcher kortikaler Karten. Darüber hinaus kann es auch sinnvoll sein, neue Parzellierungsschemata aus den vorhandenen zu konstruieren: zum Vergleich der Konnektivitätsmuster mit den Aktivierungskarten aus funktionellen bildgebenden Verfahren bietet sich die Übersetzung in eine gröbere Regionalkarte an, die den im funktionellen Bild dargestellten Regionen (wie z.B. medialer orbitaler Kortex, vorderer Gyrus cinguli, Präkuneus) aufgrund topografischer Kriterien ausreichend sicher zugeordnet werden kann.



liegen, dass die Zahl der in einer Arbeitsgruppe untersuchten Tiere nur in Ausnahmefällen so groß ist, dass statistische Unterschiede zwischen den Geschlechtern oder den Hemisphären herausgearbeitet werden könnten. Solche Fragestellungen können erst durch die systematische Erfassung publizierter Daten in Datenbanken ausreichend erfasst werden. Dies Beispiel zeigt deutlich, dass die Erforschung der globalen Organisation des zerebralen Kortex über die Möglichkeiten einzelner Arbeitsgruppen hinaus geht und internationale Koordination und Zusammenarbeit erfordert.

Aufgrund der Schwerpunktsetzung in der Erfassung von Konnektivitätsdaten waren nicht alle Regionen des Kortex gleich gut abgedeckt. Am besten war die Situation im Präfrontalkortex, der sich nach Walker in  $n=12$  Areale gliedert mit entsprechend  $n \cdot (n-1) = 132$  möglichen Inter-Areal-Verbindungen, von denen nur neun nicht bekannt sind (Abb. 16). Bei höherer Auslösung unter Verwendung der detaillierten Karte von Carmichael & Price mit 23 Arealen liegen immerhin noch für 78% der Verbindungen Informationen vor (Abb. 23). Von diesen sind nur 26% abwesend (21% in der Karte von Walker). Zum Vergleich fanden Scannell und Kollegen (Scannell et al., 1999), dass die nachgewiesenen Verbindungen zwischen den Arealen des Katzenkortex nur 28% aller möglichen Verbindungen umfassen. Diese Beispiele deuten außerdem bereits darauf hin, dass der Anteil der als existent nachgewiesenen Verbindungen für umgrenzte Regionen höher ist als auf der globalen Ebene für den Gesamtkortex.

	10m	10o	11l	11m	12l	12m	12o	12r	13a	13b	24b	24c	13l	13m	14c	14r	24a	25	45	46	32	8	9
10m		3	1	3	1	1	3	1	2	1			1	1	0	3						3	0
10o			2	1	1	1	3	0	3	1	X		1	0	0	3	X					3	0
11l		1		3	3	3	1	3	2	3			3	3		1					0	0	0
11m		3	1		1	0	1	3	3	3	X		1	1		3	X				0	2	0
12l		2	3	0		3	3	3	1	2			3	3	0	2		0				0	
12m		1	3	0	3		3	3	1	1	0		3	3	0	1						0	
12o		3	2	1	1	3		3	3	3			3	3	0	3						3	0
12r		0	3	0	3	3	1		1	1	0		2	1	0	1						0	
13a	3	1	1	3	1	1	1	2		3	3	1	1	3	3	1	3	3	0	3	3	0	3
13b		1	1	3	1	0	1	2	3				1	3		3					X	0	0
24b		1	1	3	1	1	3	X	X	X			2	1	X	1					0	X	3
24c		1	0	0	X	1	1	1	1	0			0	1	X	0		0	0	0	X	1	0
13l		1	3	0	3	3	3	2	3	2					1	0	0					0	1
13m		1	3	2	3	3	1	1	3	3			3		0	0					0	0	0
14c		0	1	1	0	0	1	0	2	1			1	2		3					0	2	0
14r	3	3	1	1	0	0	3	1	3	1	3	0	1	1	3		2	1	0	3	1	0	1
24a		0	0	3	1	1	0	0	X	X			0	0	0	X				0	X	3	1
25		0	0	1	0	0	1	0	1	0			0	1		2						0	1
45		1	3	0	3	2	3	3	1	0	0	1	1	0	0	1	0	0			3	0	2
46	0	3	3	3	3	3	3	3	3	0	X	X	1	0	0	3	X	0	3		0	X	3
32		2	1	3	0	0	3	0	1	1		X	1	1	3	3				0	2		0
8		0	0	0	3	X	2	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	2	3	0	0	0
9		3	0	1	1	0	3	1	1	0		0	1	0	0	3				0	X	2	X

Abb. 23. Anatomische Konnektivitätsmatrix des Präfrontalkortex im Parzellierungsschema von Carmichael & Price (1994). Ausgangs- und Ziel-Areale sind wie in Abb. 16 angeordnet.

Die in der Datenbank CoCoMac-Stry vorhandenen Daten (Abb. 17) decken 43,8% aller Verbindungen ab, die in dem kombinierten Parzellierungsschema von Walker (1940) und von Bonin & Bailey (1947) theoretisch möglich sind. Von diesen sind wiederum 34,1% als existent nachgewiesen worden, während die übrigen als abwesend dokumentiert wurden.

### 3.1.6 Pfadlänge und Clusterindex

Welche Konsequenzen haben diese Konnektivitätsdichten für die Länge der Kommunikationswege zwischen kortikalen Arealen? Von 53 Arealen des Katzenkortex nach Scannell et al. (1999) hat jedes Areal im Durchschnitt  $15 \pm 8$  (MW $\pm$ SA) Verbindungen. Wären diese Verbindungen zufällig und gleich verteilt, dann stünde jedes Areal mit jedem anderen über maximal zwei Zwischenareale in Verbindung. Zum Vergleich berechnete Palm (1988) auf der Grundlage der Daten von Braitenberg & Schüz (1989; 1991) über neuronale Verschaltungen im gesamten Mausekortex, dass die  $2 \cdot 10^7$  Neurone mit durchschnittlich  $8 \cdot 10^3$  Synapsen je Neuron bei zufälliger Verschaltung ebenfalls maximal zwei Umschaltstationen benötigen würden, um mit jedem anderen Neuron kommunizieren zu können. Obwohl es (insbesondere für die Thalamus und Kortex verbindenden Neurone) Ausnahmen zu der Annahme der Zufallsverteilung für die interneuronalen Verbindungen gibt, legen diese Daten eine ubiquitäre Verteilung aller Signale nahe (Braitenberg & Schüz 1989; 1991). Darüber hinaus gilt dieser Befund nicht nur für anatomische Verbindungen, sondern auch für die funktionelle Konnektivität. Die kürzeste Pfadlänge (minimale Zahl konsekutiver Projektionen) (Watts & Strogatz, 1998) zwischen zwei Arealen ist im Durchschnitt über alle Arealpaare  $L_{\text{real}} = 2.17$ . Dieser Wert kann statistisch nicht von dem eines Netzwerks mit zufälliger Konnektivität derselben Verbindungsdichte unterschieden werden ( $L_{\text{rand}} = 2.15$ ; SA = 0.02, n = 20). Neben der mittleren Pfadlänge ist noch ein weiterer Index von besonderem Interesse, nämlich die Tendenz der lokalen Gruppenbildung innerhalb des globalen Netzwerkes ausgedrückt durch den Clusterindex C, der den Anteil der tatsächlich existierenden Verbindungen mit anderen Arealen an allen möglichen Verbindungen gemittelt über alle Areale darstellt (Watts & Strogatz, 1998). Dieser Wert liegt für die funktionellen Verbindungen bei  $C_{\text{real}} = 0.38$  und damit signifikant um 15 Standardabweichungen höher als bei einem entsprechenden Netzwerk mit zufälliger Verschaltung ( $C_{\text{rand}} = 0.16$ ; SA = 0.01; n = 20). Pfadlänge und Clusterindex zeigen entgegengesetzte Tendenzen von Netzwerken an. Watts & Strogatz (1998) zeigten darüber hinaus, dass eine bestimmte Klasse von Netzwerken als besondere Eigenschaft gleichzeitig eine kurze Pfadlänge und einen hohen Clusterindex aufweist (d.h.  $L_{\text{real}} \approx L_{\text{rand}}$ , aber  $C_{\text{real}} \gg C_{\text{rand}}$ ), was die Autoren als „small world connectivity“ bezeichneten. Netzwerke mit „small world connectivity“ besitzen erhebliche Vorteile gegenüber Netzwerken mit nachbarschaftsbasierten oder zufällig verteilten Verbindungen: sie zeigen höhere Aktivitätsausbreitungsgeschwindigkeiten, größere Informationsverarbeitungskapazität und stärkere Synchronisierbarkeit bei einer minimalen Anzahl von Verbindungen. Gerade diese Eigenschaften liegen bei diesen funktionellen Konnektivitätsdaten vor (Stephan et al., 2000a). Sie finden sich ebenso in der durch Tracingstudien nachgewiesenen anatomischen Konnektivität des zerebralen Kortex des Affen und der Katze (Hilgetag et al., 2000), und stehen sehr wahrscheinlich im Zusammenhang mit der besonderen Art der Informationsverarbeitung in der Gehirnrinde (siehe auch Tononi et al., 1998; Sporns et al., 2000).

## 3.2 Optimale Arealgruppen-Analyse

### 3.2.1 Methode

Nachdem Pfadlänge, Clusterindex und andere Indizes die globale Struktur des kortikalen Netzwerkes aufzeigt haben, stellt sich die Frage, welche der kortikalen Areale zu entsprechenden Clustern zusammenfinden und welche Implikationen sich daraus für die spezifischen funktionellen Systeme des zerebralen Kortex ergeben. Zu diesem Zweck führten wir für die neuronografisch bestimmten funktionellen Interaktionen zwischen den kortikalen Arealen eine Optimale Arealgruppen-Analyse („optimal set analysis“, OSA) durch, die von Hilgetag et al. (2000) für die Analyse kortikaler Assoziationsfasern entwickelt wurde. Dieses Verfahren betrachtet den zerebralen Kortex als ein Netzwerk diskreter, aber miteinander verbundener Areale und identifiziert optimal vernetzte Arealgruppen („optimal sets“) unter der Maßgabe, dass sich funktionelle kortikale Systeme durch ein Maximum an intrinsischen Verbindungen (innerhalb der Arealgruppen) und ein Minimum an extrinsischen Verbindungen (mit den Arealen anderer Gruppen) auszeichnen (siehe einen ähnlichen Ansatz bei Tononi et al., 1998). Dementsprechend wird eine Kostenfunktion mit den zwei Komponenten „Anziehung“ (Anzahl existierender Verbindungen zwischen verschiedenen Arealgruppen) und „Abstoßung“ (Anzahl abwesender Verbindungen innerhalb jeder Gruppe) definiert, die es zu minimieren gilt. Das mathematische Verfahren bedient sich eines Ansatzes aus der Theorie der evolutionären Optimierung unter Verwendung sogenannter „genetischer Algorithmen“: Initial werden die Areale zufällig einer unterschiedlichen Zahl von Gruppen zugeordnet, und die „Anziehung“ zwischen den Gruppen sowie die „Abstoßung“ innerhalb der Gruppen errechnet. Im Sinne wiederholter Mutation und Selektion werden nun einzelne Areale einer Gruppe entnommen und einer anderen Gruppe zugeordnet, die entsprechenden Kosten neu berechnet und die Arrangements mit niedrigen Kosten der weiteren Umordnung unterworfen, bis die Gesamtkosten ein Minimum erreichen (Abb. 24) (siehe Details in Hilgetag et al. 2000). Die optimalen Gruppen und ihre Größe hängen dabei von der relativen Gewichtung der Kostenkomponenten „Anziehung“ und „Abstoßung“ und der Gewichtung der unterschiedlichen Verbindungsstärken für die „Anziehung“ ab. Zur Kontrolle dieser Einflüsse wurden die relativen Gewichte von „Anziehung“ und „Abstoßung“ variiert und sowohl abgestufte Verbindungsstärken als auch binäre Kategorien (im Sinne von Existenz bzw. Fehlen der Verbindung) betrachtet. Die wichtigsten Gewichtungen von „Anziehung“ und „Abstoßung“ waren a) maximale Verschmelzung der Areale zum Erkennen unabhängiger funktioneller Gruppen (11:1); b) Balance von „Anziehung“ und „Abstoßung“ (1:1); c) Zerlegung der Arealgruppen bis zur Entfernung aller abwesenden Verbindungen, um ihre nicht weiter unterteilbaren funktionellen Bausteine zu erkennen (1:11); 4) Mittelung über alle Gewichtungen, inklusive der drei vorgenannten, zur Erkennung der konstanten Arealgruppen.

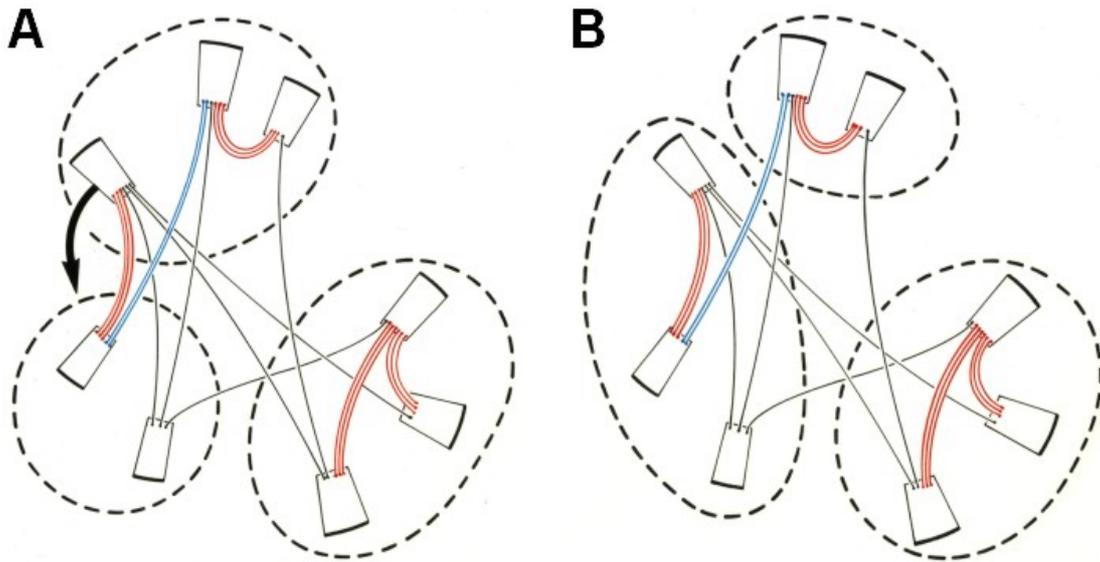


Abb. 24. Verfahren der optimalen Gruppenanalyse. Ausgehend von Zufallsgruppierungen (A) werden Areale zufällig re-arrangiert (B) bis die Verbindungen innerhalb der Gruppen maximiert und zwischen den Gruppen minimiert sind.

Für jedes dieser Parametersets wurde das 1% der Arrangements mit den niedrigsten Kosten als sogenannter Clusterplot dargestellt. Der Clusterplot ist eine Matrix aller Areale, an deren Kreuzungspunkten die prozentuale Häufigkeit des Auftretens des jeweiligen Arealpaares in einer gemeinsamen Gruppe („Assoziation“) eingetragen ist (Abb. 25). Zur Identifizierung der Arealgruppen in den Clusterplots wurde die Regel verwendet, dass zwei Areale zu derselben Gruppe gehören, wenn sie gemeinsam oder über eine Kette anderer Arealpaare in mehr als 50% der Fälle zusammen auftraten. Die statistische Signifikanz der Ergebnisse wurde durch ein Bootstrapping-Verfahren abgesichert, mit dem aus den Originaldatenmatrizen durch zufälliges Vertauschen der Areale jeweils 20 Vergleichsmatrizen generiert wurden. Sowohl für die Original- als auch die Vergleichsmatrizen wurden die linearen Korrelationskoeffizienten und die Verteilung der niedrigsten Kosten bestimmt. Die Korrelationsanalyse wurde ebenfalls zum Vergleich der abgestuften mit den binären Verbindungsstärken verwendet.

Schließlich wurde ein hierarchisches Clusterungsverfahren zur alternativen Darstellung der Struktur der Arealgruppen eingesetzt (SYSTAT 8.0, SPSS Inc., Chicago, IL). Dieses Verfahren beginnt mit der feinsten Partitionierung, bei der jedes Areal ein eigenes Cluster bildet. Nach Berechnung der Distanzen zwischen allen Arealen werden die zwei Areale mit der kleinsten Distanz fusioniert und der Prozess wiederholt, bis alle Areale zu einem Cluster verschmolzen sind. In einem Dendrogramm wird zusammenfassend die Abfolge der Arealgruppierungen und die Distanz zwischen den jeweils zusammengefassten Clustern dargestellt. Als Distanzen wurden die normalisierten Euklidischen (d.h. Wurzel der mittleren quadrierten) „Assoziationen“ der Clusterplots verwendet. Das hierarchische Clusterungs-

Verfahren zeigt hier besonders anschaulich den relativen Zusammenhang zwischen den funktionell definierten Arealen bzw. Arealgruppen.

### 3.2.2 Ergebnisse

Die maximale Verschmelzung der Areale lieferte neben vier einzelnen Arealen, für die keinerlei publizierte Interaktionen vorlagen, eine einzige große Arealgruppe. Dies zeigt, dass der zerebrale Kortex keine völlig separaten funktionellen Arealgruppen aufweist.

In der Balance von „Anziehung“ und „Abstoßung“ formten sich folgende wesentliche Gruppierungen (Abb. 25):

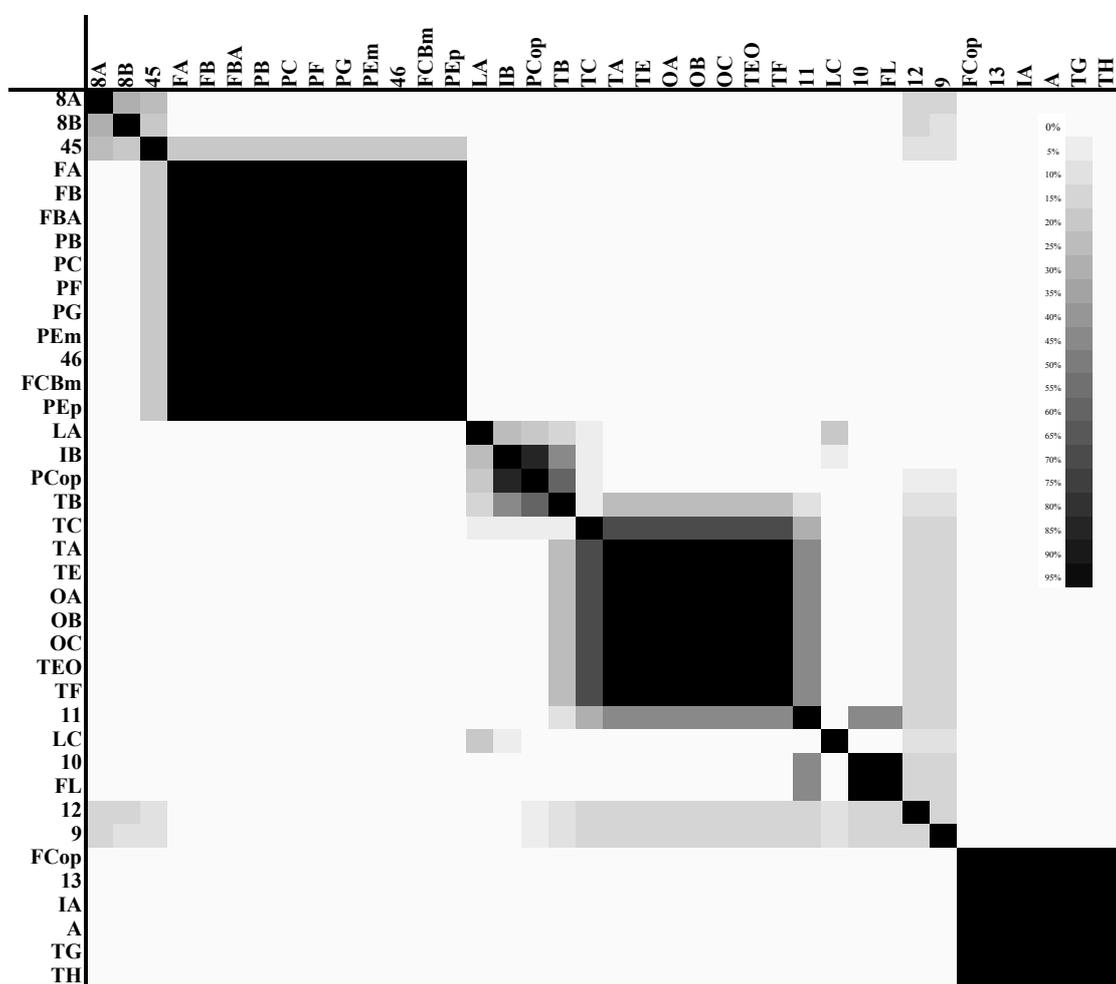


Abb. 25. Clusterplot der „Assoziation“ von Arealpaaren über ihre globale funktionelle Konnektivität (Balance, abgestufte Verbindungsstärken). Grauwerte geben die Häufigkeit an, mit der das jeweilige Arealpaar optimal einer gemeinsamen Arealgruppe zugeordnet war. Die Nomenklatur der Areale entspricht der Karte in Abb. 22. (Stephan et al., 2000a).

- primär motorischer Kortex (Area FA), laterale und mediale prämotorische Areale (Areale FB, FBA, FCBm), primär somatosensorischer Kortex (Areale PB und PC), parietale Areale (Areale PEm, PEp, PF, PG) sowie die laterale präfrontale Area 46. Alle diese Areale gehörten in 99,2% - 100% einer gemeinsamen Gruppe an, die wir als sensomotorische Gruppe bezeichnen.
- primärer (Area OC) und extrastriärer visueller Kortex (Areale OA und OB), temporo-occipitaler Kortex (Area TEO), inferotemporaler Kortex (Area TE), superotemporaler Kortex einschließlich Teilen des Sulcus temporalis superior (Area TA) und medialer Temporalkortex (Area TF). Diese Areale bildeten in 100% der Fälle eine Gruppe, die wir als die visuelle Gruppe bezeichnen. In 69,2% der Fälle fiel auch der primäre auditorische Kortex (Area TC) in diese Gruppe, was allerdings durch die geringe Anzahl publizierter Interaktionen bedingt sein mag: bei Area TC waren nur 19,7% aller möglichen Interaktionen untersucht worden, wovon wiederum nur vier existent waren, nämlich die reziproken Interaktionen mit den temporalen Arealen TA und TE.
- orbitofrontaler Kortex und Operculum frontale (Areale 13 und FCop), vordere Inselregion (Area IA) und der Temporalpol sowie mediale und allokortikale Areale des Temporallappens (Areale TG, TH und A). Auch diese Areale bildeten immer eine Gruppe, die man als orbito-temporo-insuläre Gruppe bezeichnen kann.

Unter den Bedingungen der Balance von „Anziehung“ und „Abstoßung“ fanden sich zwei weitere kleine Arealgruppen, die jedoch in anderen Konstellationen nicht konsistent reproduziert wurden. Es handelt sich zum einen um zwei präfrontale Areale, nämlich Area 10 des Frontalpol und die Area subcallosa (Area FL) mit 100% Assoziation, zum anderen um die hintere Inselregion (Area IB), Teile des Planum temporale (Area TB) und das Operculum parietale (Area PCop) mit Assoziationen im Bereich von 61,7% - 83,1%. Weitere acht Areale blieben isoliert, nämlich die präfrontalen Areale 8A, 8B, 9, 11, 12, 45 und die zingulären Areale LA und LC. Mit Ausnahme der Area 45 ist die Ursache für die Isolation in der geringen Anzahl der untersuchten und existenten Interaktionen zu suchen (10,5% - 26,3% der möglichen Interaktionen waren untersucht worden, wovon für die Areale 8A, 8B, 9 und 12 alle abwesend waren).

Abgestufte und binäre Gewichtung der Verbindungsstärken lieferten sehr ähnliche Ergebnisse, wie die Korrelationsanalyse zeigt ( $r = 0,82$ ). Der deutlichste Unterschied für die binären Verbindungsstärken bestand darin, dass die visuellen Areale TF und TEO nicht bei den anderen Arealen der visuellen Gruppe blieben, sondern zusammen mit Area LC eine eigene Gruppe formten (97,8% - 100% Assoziation). Die oben genannte orbito-temporo-insuläre Gruppe zeigte eine schwache Unterteilung in die orbitofrontalen und insulären Areale (Areale 12, FCop und IA) einerseits, und in die temporalen Areale (Areale TC und A) andererseits, die aber noch in 90,2% der Fälle

beieinander blieben. Vor allem Areal TH zeigte eine schwächere Assoziation (67,4% - 77,2%) mit den anderen Arealen der Gruppe. Schließlich ergaben sich zwei geringfügige Unterschiede in der sensomotorischen Gruppe: die parietale Area PEP assoziierte sich in 66,8% der Fälle mit dem vorderen Gyrus cinguli (Area LA) statt mit den anderen Arealen der somatomotorischen Gruppe; stattdessen schloss sich die laterale präfrontale Area 45 in 84,2% der Fälle der sensomotorischen Gruppe an.

Die Zerlegung der Arealgruppen (Abb. 26) führte wiederum zu hochkorrelierten Ergebnissen für die abgestuften und die binären Verbindungsstärken (Korrelationskoeffizient  $r = 0,93$ ). Im Vergleich zu den abgestuften Balance-Bedingungen spaltete sich die orbito-temporo-insuläre Gruppe in eine orbito-insuläre Gruppe (Areale 13, FCop, IA) und eine temporale Subgruppe (Areale TG, TH, A) auf, jeweils mit einer Assoziation von 100%.

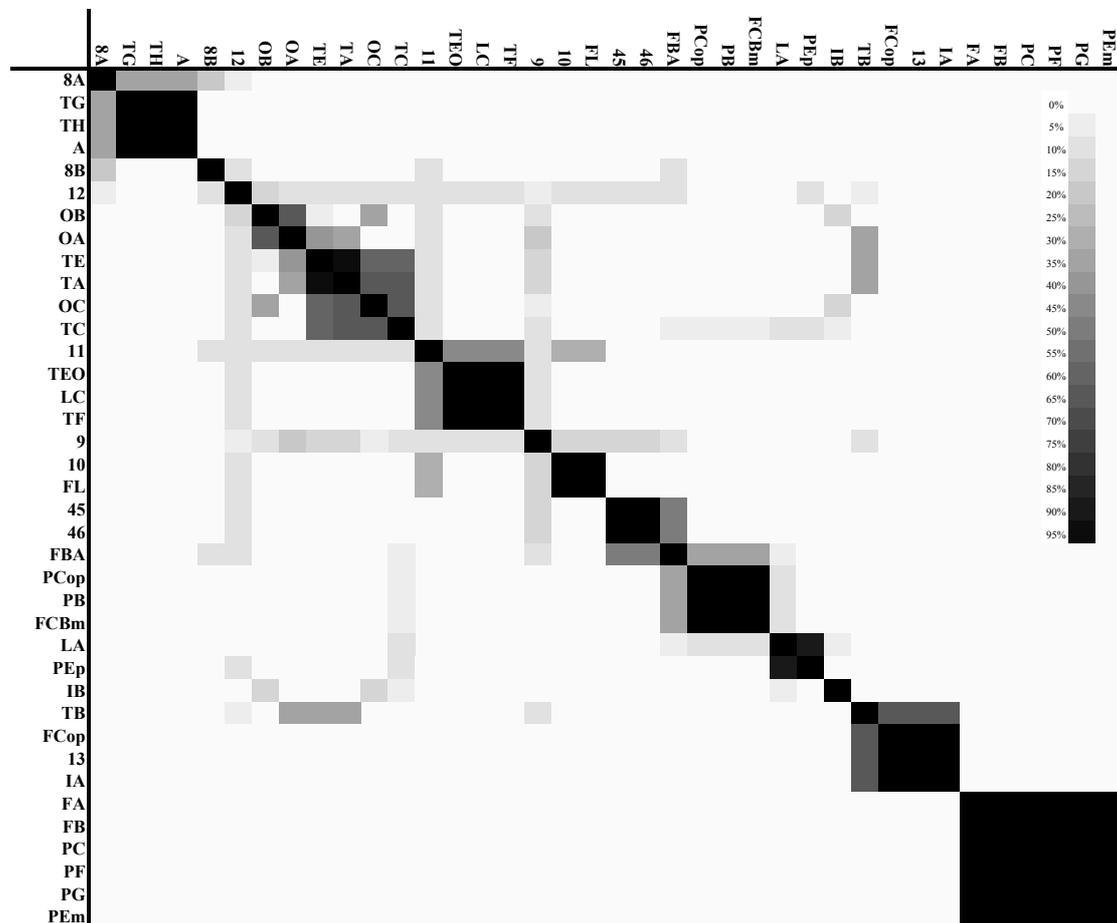


Abb. 26. Clusterplot für die Zerlegung der Arealgruppen bei binären Verbindungsstärken. Zur Erklärung der Darstellung siehe Abb. 25. (Stephan et al., 2000a).

Die visuelle Gruppe unterteilte sich hier in drei Subgruppen: der primäre visuelle Kortex OC blieb nur noch schwach bei den stark assoziierten supero- und inferotemporalen Arealen TA und TE; die Areale TF und TEO bildeten eine zweite Subgruppe, OA und OB die dritte. Im Gegensatz zu den orbito-temporo-insulären und den visuellen Gruppen zeigte die sensomotorische Gruppe bei diesem Parameterset keine weitere Unterteilung.

Auch die Mittelung über alle Gewichtungen hinweg (Abb. 27) führte zu sehr ähnlichen Ergebnissen für abgestufte und binäre Verbindungsstärken ( $r = 0,83$ ). Erwartungsgemäß kam es zu einer weniger scharfen Darstellung der Arealgruppen im Clusterplot, insbesondere unter Verwendung der binären Verbindungsstärken, bei denen die visuellen und sensomotorischen Arealgruppen sich zu überlagern begannen. Die Areale mit dem stärksten Zusammenhang in der sensomotorischen Gruppe waren der primäre motorische Kortex (FA), der primäre somatosensorische Kortex (PC), die prämotorischen Areale FB und FCBm, sowie das parietale Areal PEm.

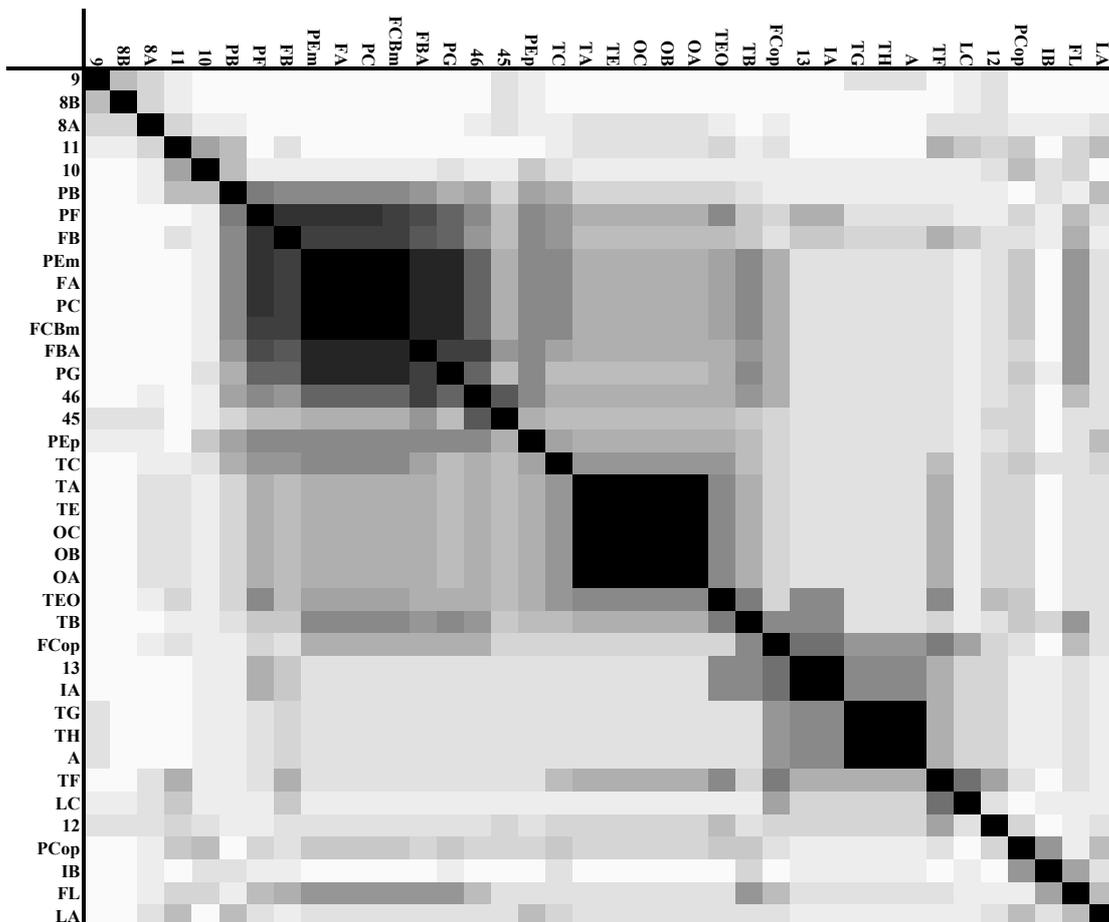


Abb. 27. Clusterplot für die Mittelung über den gesamten Parameterbereich von „Anziehung“ und „Abstoßung“ bei abgestuften Verbindungsstärken. Zur Erklärung der Darstellung siehe Abb. 25. (Stephan et al., 2000a).

An diesen Kern fügten sich alle anderen somatomotorischen Areale an, während die laterale präfrontale Area 46 und die primär somatosensorische Area PB weniger deutliche Zugehörigkeiten aufwiesen. Die orbito-temporo-insuläre Arealgruppe zeigte auch hier wieder die Tendenz zur Unterteilung in orbito-insuläre und temporale Subgruppen. Bei den abgestuften Daten wurde sogar die Assoziationsschwelle mit 46,1% unterschritten. Die visuelle Arealgruppe zeigte im Mittel ein stabiles Bild, insbesondere für die Areale OA, OB, OC, TA und TE, und etwas weniger für die Areale TEO und TF, wobei letztere in Beziehung zum hinteren Gyrus cinguli (Areal LC) standen.

Die statistische Auswertung zeigte, dass ein äußerst geringer Zusammenhang zwischen diesen Daten und den durch Bootstrapping erzeugten Vergleichsdaten besteht. Die Absolutwerte der Korrelationskoeffizienten lagen zwischen  $r = 0,0005$  und  $r = 0,0784$  (MW = 0,0236, SA = 0,0193). Es ist daher extrem unwahrscheinlich, dass die vorgelegten Ergebnisse zufällig erhalten worden wären. Die Analyse der minimalen Kosten für optimale Konfigurationen über alle Datensätze lieferte ein noch eindrucksvolleres Bild: die Verteilung der minimalen Kosten in den Vergleichsdaten besaß einen Mittelwert von 166,5 (SA = 3,82) und war damit mehr als neun Standardabweichungen höher als die der Originaldaten (MW = 132). Daher ist es äußerst unwahrscheinlich, dass ein zufällig erzeugtes Netzwerk von Arealen mit derselben Zahl an Interaktionen vergleichbar niedrige Kosten besitzt wie das von uns untersuchte Netzwerk funktioneller Interaktionen im zerebralen Kortex. Die Übereinstimmung zwischen den abgestuften und den binären Daten für die Interaktionsstärken, dagegen, war sehr hoch, so dass der Einfluss relativen Interaktionsstärke auf die Ergebnisse als sehr gering beurteilt werden kann.

Die Gegenüberstellung der Dendrogramme des hierarchischen Cluster-Verfahrens über die konstanten drei großen Arealgruppen für die Zerlegung der Arealgruppen und für die Mittelung über alle Parameterkonstellationen zeigte besonders deutlich den Einfluss der Parameter „Anziehung“ und „Abstoßung“ (Abb. 28). Die Zerlegung der Arealgruppen bei abgestuften Verbindungsstärken führte zu kleinen, klar definierten und sehr unterschiedlichen Clustern, die erst mit relativ hohen Distanzen verschmolzen. In der Mittelung aller Konfiguration mit binären Verbindungsstärken bildeten sich relativ große Cluster mit unscharfen Grenzen, da sie nur geringe Verschmelzungsdistanzen aufwiesen. Dies wurde für die sensomotorische und die visuelle Arealgruppe besonders deutlich.

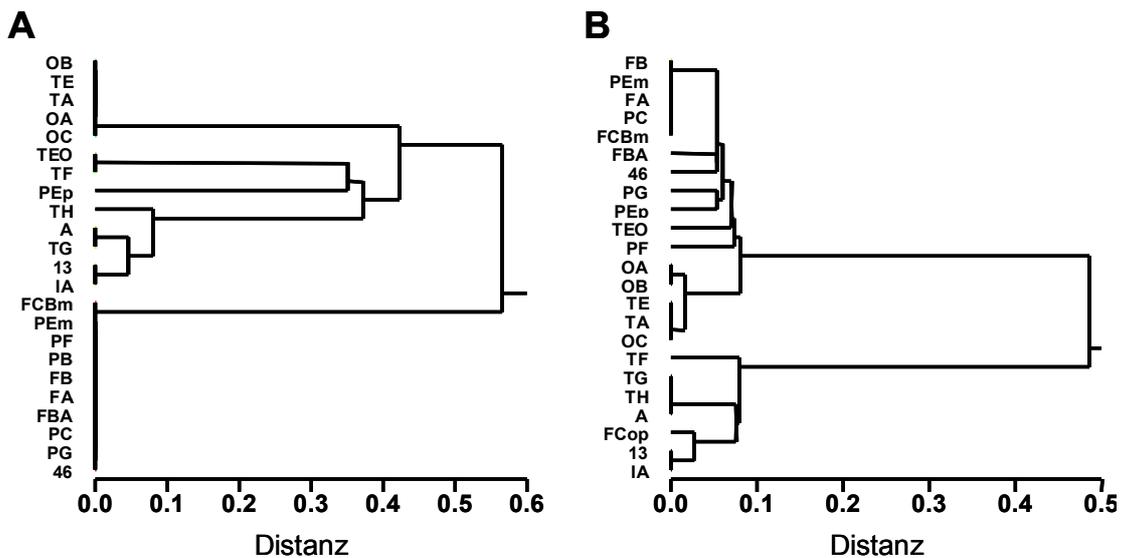


Abb. 28. Dendrogramme für die Verschmelzung der drei großen Arealgruppen unter unterschiedlichen Parameterkonstellationen. (A) Zerlegung der Arealgruppen bei abgestuften Verbindungsstärken, (B) Mittelung über alle Parameterkonstellationen bei binären Verbindungsstärken. Die Nomenklatur der Areale entspricht Abb. 22.

### 3.2.3 Diskussion

Die vorstehenden Untersuchungen zeigen eine klare Gliederung des Primatenkortex aufgrund seiner funktionellen Interaktionen in drei große Arealgruppen: die sensomotorische, visuelle und orbito-temporo-insuläre Arealgruppe. Die Ergebnisse sind statistisch hochsignifikant und weder abhängig von der Abstufung der Interaktionsstärken noch (nicht gezeigt) von der Verwendung einer besonderen Gehirnkarte. An dieser Stelle soll die Plausibilität der Ergebnisse und ihr Verhältnis zu bereits bekannten Aspekten der Organisation des Primatengehirns diskutiert werden

Beginnen wir mit der sensomotorischen Arealgruppe: Die Unteilbarkeit von präzentralen motorischen und postzentralen somatosensorischen Arealen kommt nicht völlig überraschend. Die enge Verflechtung dieser Areale wurde bereits durch die starken anatomischen Verbindungen zwischen den primären motorischen und somatosensorischen Arealen. (z.B. Stepniewska et al., 1993) und die Analyse der anatomischen Verbindungen für den gesamten Primatenkortex nahegelegt (Young, 1993; Young et al., 1994b). Funktionelle Studien haben diesen Zusammenhang ebenfalls mehrfach bestätigt. Beispielsweise zeigten Läsionsstudien bei Affen die Notwendigkeit somatosensorischer Eingänge für den Neuerwerb motorischer Fertigkeiten (Pavlidis et al., 1993) und bildgebende Verfahren beim Menschen nicht nur die gemeinsame Aktivierung prä- und postzentraler Areale bei der Bewegungsdurchführung, sondern auch deren Kooperation bei der Bewegungsvorstellung (Porro et al., 1996) auf. Darüber hinaus bestehen Hinweise auf

die starke Beteiligung aller parietalen Areale (PEm, PG, PF und laterale Anteile von PEp in der von Bonin & Bailey-Karte) an motorischen und somatosensorischen Abläufen. Beispielsweise zeigten neuere Einzelzelleableitungen bei wachen Affen, dass die zellulären Aktivitätsmuster in den posterioren parietalen Arealen LIP und PRR Änderungen motorischer Pläne widerspiegeln (Snyder et al., 1998). Aufgrund ähnlicher Ergebnisse vermutete Seal (1989), dass der dorsale Parietalkortex eine Rolle bei der Transformation sensorischer in motorische Aktivität spielt. In bezug auf die Zuordnung der lateralen präfrontalen Area 46 haben mehrere Studien der anatomischen Faserbahnen ihre reziproke Verbindung sowohl mit prämotorischen, als auch mit parietalen Arealen nachgewiesen (Barbas & Pandya, 1987; Bates & Goldman-Rakic, 1993; Cavada & Goldman-Rakic, 1989; McGuire et al., 1991; Petrides & Pandya, 1984).

Im Gegensatz zu der sensomotorischen Arealgruppe ließ sich die visuelle Arealgruppe durch starke „Abstoßung“ in drei Subgruppen zerlegen: die prästriären Areale OA und OB bildeten eine erste Subgruppe, supero- und inferotemporale Areale TA und TE eine zweite, und die Areale TF und TEO die dritte Subgruppe. Der striäre Kortex, OC, steht in Beziehung zu der zweiten Gruppe, scheint jedoch eine besondere Stellung in dieser Konfiguration einzunehmen. Auffällig sind außerdem die schwächere Assoziation des primär visuellen Kortex mit OB und OA im Vergleich zu TF und TEO, sowie die klare Anbindung an Areale des ventralen visuellen Stroms im Gegensatz zu Arealen des dorsalen Stroms. Auf diese Auffälligkeiten, die im Zusammenhang mit der heute sehr viel feineren Untergliederung der Areale OB und OA stehen (Felleman & Van Essen, 1991) wird im weiteren noch eingegangen (siehe 3.3).

Die Interpretation der orbito-temporo-insulären Arealgruppe ist weniger eindeutig als die der zwei vorhergehenden Arealgruppen. Aus anatomischer Sicht formen diese Areale ein dichtes Netzwerk reziproker Verbindungen, wie zahlreiche Tracing-Studien gezeigt haben (Carmichael & Price, 1996; Mesulam & Mufson, 1982b; Mesulam & Mufson, 1982b; Moran et al., 1987; Morecraft et al., 1992). Daher besitzen die ausgeprägten Interaktionen dieser Areale eine gut dokumentierte strukturelle Grundlage. Ihre funktionelle Zuordnung ist jedoch weniger eindeutig. Einige Autoren sehen in der Kombination der orbitofrontalen und insulären Regionen das kortikale Zentrum der Geschmacksverarbeitung (Rolls, 1989; Yaxley et al., 1990). Nach anderen Vorstellungen fügen sich die Areale dieser Gruppe in das Konzept des „limbischen Systems“ ein (Mesulam & Mufson, 1982a; Mesulam & Mufson, 1982b; Pribram & MacLean, 1953). Mesulam & Mufson (1982a) beispielsweise betrachten die Insel, den lateralen Orbitalkortex und den Temporalpol als „paralimbische Areale mit einem olfaktorischen allokortikalen Fokus“. In jüngerer Zeit wird das Konzept des „limbischen Systems“ aus empirischer und wissenschaftstheoretischer Sicht zunehmend kritisiert (Blessing, 1997; Kötter & Meyer, 1992; Kötter & Stephan, 1997; LeDoux, 1991) mit dem Argument, dass die Bezeichnung dieser Areale als

„limbisch“ weder strukturellen noch funktionellen Erklärungsgehalt hat. Nichtsdestoweniger stimmt das anatomische Konzept von Mesulam und Mufson (1982b) erstaunlich gut mit der hier dargestellten funktionell definierten orbito-temporo-insulären Arealgruppe überein, so dass man sie, wie diese Autoren es tun, „als eine integrale Einheit der Hirnorganisation“ betrachten mag, was allerdings nicht über den Mangel an weiterführenden Konzepten hinwegtäuschen kann.

### 3.3 Nicht-metrische multidimensionale Skalierung

#### 3.3.1 Methode

Neben dem neuartigen Verfahren der optimalen Gruppenanalyse bestehen andere, bereits etablierte statistische Methoden zur Abschätzung der Ähnlichkeit multivariater Messgrößen. Die multidimensionale Skalierung ist solch ein statistisches Verfahren, das Objekte entsprechend ihrer Ähnlichkeit in einem hochdimensionalen Raum positioniert, aus dem sie unter Erhaltung ihrer Abstandsreihenfolge in eine Ebene projiziert werden können (Abb. 29).

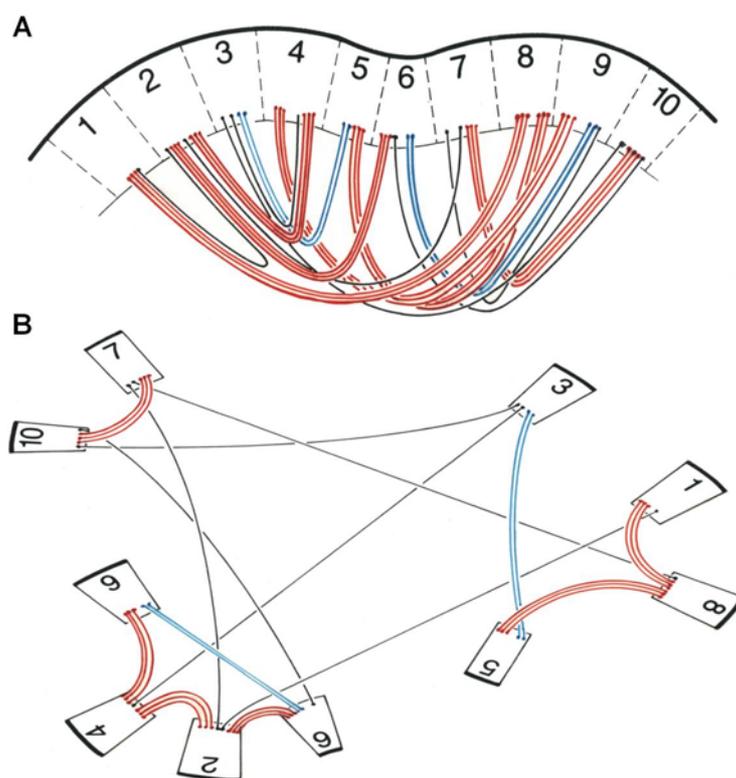


Abb. 29. Verfahren der nicht-metrischen multidimensionalen Skalierung. (A) Die Stärke der Faserverbindungen zwischen den Arealen wird als Maß für ihre Ähnlichkeit verwendet. Dies kann vereinfacht dadurch veranschaulicht werden, dass die Verbindungen wie elastische Bänder entsprechend ihrer Stärke das Auseinanderziehen der Areale einschränken. (B) Die so entstehende Konfiguration wird in eine Ebene projiziert, in der die Nähe der Areale als ein Maß der globalen Ähnlichkeit ihrer Verbindungen betrachtet werden kann.

Die Objekte sind im vorliegenden Fall wiederum kortikale Areale, deren Ähnlichkeit über ihre Konnektivität, d.h. die Übereinstimmung der Verbindungsstärken von Afferenzen und Efferenzen, definiert wird (Burns & Young, 2000; Burns, 1997; Young et al., 1995). Je ähnlicher die Konnektivitätsmuster zwei Areale sind, desto näher liegen sie in diesem Raum beieinander. Die Berechnungen erfolgten auf der Basis der untransformierten Interaktionsmatrizen unter Verwendung der MDS-Prozedur aus dem statistischen Softwarepaket SAS (Version 6.11 für Windows). Die Erstellung der zweidimensionalen Konfigurationen benutzte Kostenfunktionen mit FIT=0,5, 1 (STRESS) und 2 (SSTRESS) unter den „tied“ und „untied“ Bedingungen (siehe Details in Backhaus et al., 1996, S. 431ff.; sowie Burns & Young, 2000).

### 3.3.2 Ergebnisse

Die zweidimensionalen Repräsentationen der nicht-metrischen multidimensionalen Skalierung (NMDS) reproduzierten die großen Arealgruppen, die mittels der optimalen Gruppenanalyse gefunden worden waren (Abb. 30 zeigt zwei typische Beispiele). Darüber hinaus lieferte diese Darstellungsform anschauliche Informationen über die Position der einzelnen Areale innerhalb der globalen Struktur des funktionellen kortikalen Netzwerks. Beispielsweise beleuchteten die Diagramme die funktionelle Position der parietalen Areale, die in der optimalen Gruppenanalyse nicht sehr deutlich hervortrat. Die parietalen Areale besitzen demnach enge Beziehungen sowohl zu den sensomotorischen als auch zu den visuellen Arealen: die rostralen parietalen Areale (PEm und PF) sind dabei stärker der somatomotorischen Gruppe zuzuordnen, die posterioren parietalen Areale (PEp und PG) orientieren sich stärker in Richtung auf die visuellen Areale. Auch die Position der präfrontalen Area 46 zwischen den motorischen und den visuellen Arealen wurde hier deutlich. Unter den visuellen Arealen wurde die besondere Rolle des primären visuellen Kortex (Area OC) herausgestellt. Zu den interessantesten Befunden gehörte jedoch die deutliche Gruppierung der visuellen Areale in zwei Ströme, die beide vom primären visuellen Kortex ausgehen. Der eine beinhaltete parietale Areale (PG, PEp, PF, PEm), der andere die temporalen visuellen Areale (TEO, TE, TA, TF). In beiden Strömen wurde sogar die topografische Sequenz von posterior nach anterior gut reproduziert. Ein weiteres Merkmal war die relativ isolierte Stellung des primären auditorischen Kortex, der ja nur wenige Interaktionen, und zwar mit den temporalen Arealen TE und TA, aufwies. Die Unterteilung der orbito-temporo-insulären Arealgruppe in eine orbito-insuläre und eine temporale Komponente, die sich in der Zerlegung bei der optimalen Arealgruppen-Analyse andeutete, wurde durch NMDS bestätigt. Insbesondere zeigten diese Repräsentationen auch den im Vergleich zu der orbito-insulären Komponente stärkeren Zusammenhang der temporalen Komponente und die Position der frontalen operkulären Area FCop als das am schwächsten assoziierte Areal in dieser Untergruppe. Schließlich wiesen die NMDS-Darstellungen auf eine Sonderstellung des primären somatosensorischen Kortex (Area PC) innerhalb der sensomotorischen Arealgruppe hin.

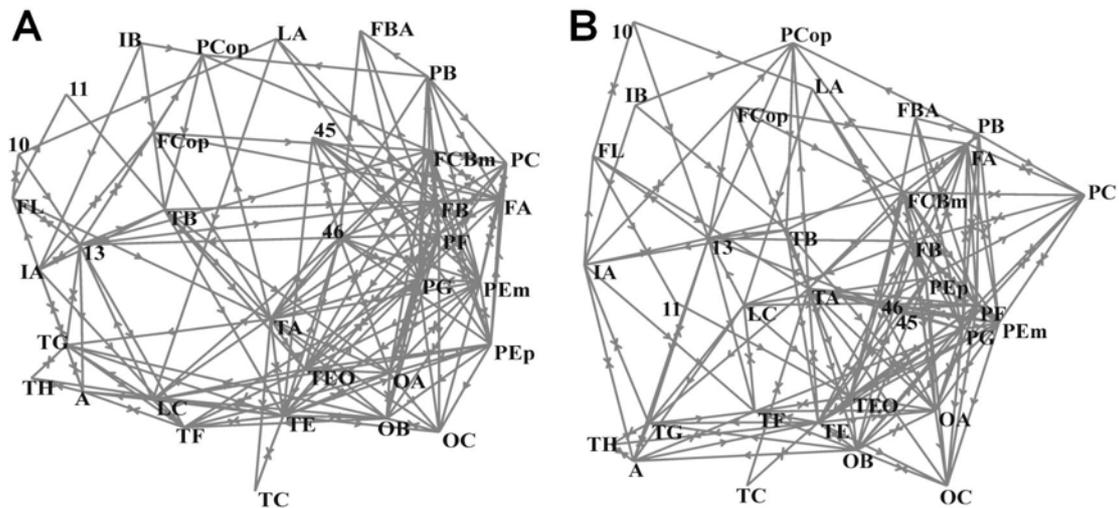


Abb. 30. Zweidimensionale NMDS-Repräsentationen der Arealähnlichkeiten aufgrund ihrer funktionellen Interaktionen mit zwei verschiedenen Parameterkonstellationen (A: FIT=1, STRESS und B: FIT=2, SSTRESS, jeweils für die „tied“ Bedingung). Pfeilspitzen bezeichnen die Richtung der beobachteten Aktivitätsausbreitung. Areale 8A, 8B, 9 und 12 entfallen, da für diese nur Abwesenheit von Interaktionen berichtet worden war. (Stephan et al., 2000a).

### 3.3.3 Diskussion

Die Ergebnisse der NMDS-Analysen sind vollständig kompatibel mit denen der optimalen Arealgruppen-Analyse. Darüber hinaus zeigen sie für die posterioren parietalen Areale PEP und PG eine deutliche Interaktion mit den prästriären Arealen OA und OB, was sich gut mit deren experimentell gezeigter Kooperation bei räumlich-visuellen Funktionen deckt (Baizer et al., 1991; Colby et al., 1988; Ungerleider et al., 1998). Area 46 erhält eine Position zwischen den motorischen und visuellen Arealen, was mit den starken anatomischen Verbindungen dieses Areals mit motorischen und visuellen Arealen übereinstimmt (Barbas, 1988; Schwartz & Goldman-Rakic, 1984). Die Analyse der visuellen Arealgruppe weist einige Besonderheiten auf. Die Zerlegung in der optimalen Arealgruppenanalyse in drei Subgruppen wird durch die NMDS-Analyse bestätigt. Zusätzlich tritt die Unterteilung visueller Areale in einen dorsalen und einen ventralen Strom hervor, wie sie von Ungerleider & Mishkin (1982) beschrieben worden war. Diese Unterteilung wird bestätigt sowohl durch experimentelle Untersuchungen (siehe Zusammenfassung bei Ungerleider et al., 1998) als auch durch Analysen der anatomischen Konnektivität des visuellen Systems (Young, 1992; Young et al., 1994b; Young et al., 1995). Es ist bemerkenswert, dass die zusätzlichen Hinweise aus der vorliegenden Untersuchung auf Daten zurückgehen, die mit relativ einfachen Methoden vor mehr als 40 Jahren bereits erhoben worden waren. Mit geeigneten Zusammenstellungen und Analyseverfahren hätten daher bereits Jahrzehnte früher die erste Beschreibung dieses grundlegenden Merkmals der Organisation des visuellen Systems geliefert werden können.

Insgesamt stimmen die vorliegenden Ergebnisse weitgehend mit den Befunden überein, die durch entsprechende Analysen der durch Tracing-Studien nachgewiesenen anatomischen Konnektivität erhoben wurden. Demnach lässt sich der Makakenkortex in vier Arealgruppen unterteilen, die den sensomotorischen, visuellen, auditorischen, und fronto-temporo-insulo-mesialen Arealen entsprechen (Young, 1992; Young, 1993). Das Fehlen der auditorischen Arealgruppe bei den vorliegenden Analysen ist mit größter Wahrscheinlichkeit auf die geringe Anzahl nachgewiesener Verbindungen zurückzuführen. Aufgrund der sulkalen Lage dieser Areale waren sie dem Verfahren der Strychnin-Neuronografie nur schlecht zugänglich und wurden daher im Vergleich zu den anderen funktionellen kortikalen Systemen kaum untersucht. Insgesamt lässt sich aus dieser Übereinstimmung der Arealgruppen vermuten, dass die topografischen Muster der Aktivitätsausbreitung, wie sie mit der Strychnin-Neuronografie induziert wurden, sehr stark durch die anatomische Konnektivität zwischen diesen kortikalen Arealen determiniert sind.

## **4 Computersimulation kortikaler Aktivitätsausbreitung**

### **4.1 Simulation der topografischen Aktivitätsausbreitung**

Die in den vorhergehenden Abschnitten dargestellte Übereinstimmung von strukturell und funktionell definierten Arealgruppen lässt vermuten, dass zumindest für epileptiforme Aktivitätsausbreitung direkte Struktur-Funktionsbeziehungen bestehen. Für den kausalen Nachweis solcher Beziehungen ist jedoch eine Korrelationsanalyse unzureichend. Ein direkter und anspruchsvoller Test der Bedeutung von Assoziationsfasern für die Aktivitätsausbreitung könnte aber darin bestehen, ein funktionelles Netzwerk auf der Basis der bekannten Assoziationsfasern zu erstellen, mit dem die topografische Aktivitätsausbreitung simuliert werden kann. Die sich daraus ergebenden Aktivierungsmuster und -sequenzen sollten mit den Befunden aus elektrophysiologischen Untersuchungen übereinstimmen. In diesem Abschnitt wird unter Verwendung eines simplen Modells für die Aktivierung kortikaler Areale gezeigt, dass tatsächlich eine globale Übereinstimmung zwischen der simulierten Aktivitätsausbreitung in einem durch kortikale Konnektivität definierten Netzwerk und den experimentell beobachteten topografischen Mustern der epileptiformen Aktivitätsausbreitung im Kortex besteht.

In einer Vorläuferstudie (Sommer & Kötter, 1997) hatten wir zum ersten Mal die Möglichkeit aufgezeigt, wie Konnektivitätsdaten aus Tracing-Studien verwendet werden können, um ein Netzwerkmodell für die Simulation der Aktivitätsausbreitung im zerebralen Kortex zu erstellen. Im folgenden haben wir diesen Ansatz erweitert, um verschiedene Hypothesen über die Ausbreitungswege kortikaler Aktivität zu evaluieren (Kötter & Sommer, 2000). Im ersten Schritt zeigen wir, dass die Annahme einer auf monosynaptische Ziele beschränkten Ausbreitung die in einem experimentellen Epilepsiemodell beobachteten Aktivierungsmuster höchst unzureichend erklärt. Im zweiten Schritt überprüfen wir die Übereinstimmung zwischen der polysynaptischen Aktivitätsausbreitung in dem auf anatomischen Daten beruhenden Netzwerk und den elektrophysiologisch bestimmten topografischen Aktivierungsmustern, die bei Stimulation des entsprechenden Areals erhalten wurden. Die Vorhersagekraft dieses Netzwerkmodells wird verglichen mit den Ergebnissen des Modells unter Verwendung von zufälligen Verschaltungen einerseits und von systematischen nachbarschaftsbasierten Verschaltungen andererseits. Schließlich diskutieren wir die zeitliche Entwicklung der topografischen Aktivierungsmuster. Die hier aufgezeigten Übereinstimmungen zwischen anatomischer Konnektivität und Aktivitätsausbreitung im zerebralen Kortex könnten hilfreich sein, spezifische topografische Aktivierungsmuster in der funktionellen Bildgebung zu erklären oder Strategien für die Modifizierung epileptischer Aktivitätsausbreitung zu entwickeln.

## 4.1.1 Methoden

### 4.1.1.1 Das Modell für die kortikalen Areale

Das verwendete Arealmodell wurde so einfach wie möglich gehalten und besaß dieselben Eigenschaften für alle kortikalen Areale in allen Simulationen. Demnach wurde eine Area im nächsten Zeitschritt ( $r+1$ ) als aktiviert betrachtet, wenn die gegenwärtige Summe seiner aktivierenden Eingänge eine Schwelle  $\Theta$  überschritt:

$$x(r+1)_j = H \left[ \sum_{i=1}^n w_{ij} x(r)_i - \Theta \right] \quad \forall j,$$

wobei  $H[x]$  die Heaviside-Funktion bedeutet,  $n$  die Gesamtzahl der Areale,  $w_{ij}$  die Kopplungsstärke zwischen zwei Arealen  $i$  und  $j$ , sowie  $x(r)_i$  die Aktivität des jeweiligen afferenten Areals. Die Kopplungsstärke stand in Beziehung zur anatomischen Verbindungsstärke:  $w_{ij} = (s_{ij})^\gamma$  für  $s_{ij} \in \{0, \dots, 3\}$  und  $\gamma = 2$ . Die exzitatorische Selbsterregung  $w_{ii}$  eines Areals besaß den festen Wert von 10 auf der Basis von groben Schätzungen des Verhältnisses von extrinsischen zu intrinsischen Axonterminalen in kortikalen Arealen. Die Schwelle wurde so geregelt, dass eine kontinuierliche Aktivitätsausbreitung auftrat:

$$\Theta(r+1) = \max \{ \Theta : |x(r)| < |x(r+1)| \leq \alpha \},$$

wobei  $|x(r)| = \sum_{i=1}^n x(r)_i$  war, und  $\alpha$  die maximale Anzahl aktiver kortikaler Areale bestimmte.

### 4.1.1.2 Konnektivitätsmodelle

Um den Einfluss verschiedener Konnektivitätsmuster auf die Simulationsergebnisse zu untersuchen, wurde das Arealmodell eingebettet in ein Netzwerk, dessen Konnektivität entweder auf experimentellen Tracing-Daten beruhte oder die Nachbarschaftsverhältnisse der Areale widerspiegelte oder zufällig generiert wurde. Die experimentellen Daten folgten der umfangreichsten publizierten Übersicht über Assoziationsfasern im zerebralen Kortex von Katzen (Scannell et al., 1995). Diese Übersicht berücksichtigte 1139 Verbindungen zwischen 65 Arealen. Zusätzlich wurden Schätzungen der Verbindungsstärke jeder Projektion angegeben. Dieses experimentell begründete Verbindungsmodell wurde mit zwei verschiedenen nachbarschaftsbasierten Verbindungsmodellen verglichen: dem Nächster-Nachbar-Modell, in dem nur Areale mit einer gemeinsamen Grenze verbunden wurden, und dem Nächster-und-übernächster-Nachbar-Modell, in dem zusätzlich diejenigen Areale verbunden wurden, die einen gemeinsamen Nachbarn besaßen. Die Verbindungsstärken dieser nachbarschaftsbasierten Modelle wurden binär angegeben (d.h.  $w_{ij} \in \{1, 2\}$ ), da empirische Daten für die Dichte solcher Verbindungen nur

teilweise bekannt waren. Die Simulationsergebnisse mit diesen drei Verbindungsmodellen wurden jeweils mit denen verglichen, die unter Verwendung von zufälligen Verbindungsmustern der entsprechenden Verbindungsdichte und Verteilung von Verbindungsstärken zwischen den 65 Arealen erhalten wurden. Dadurch war es möglich, die Vorhersagekraft des experimentell begründeten und der nachbarschaftsbasierten Modelle einzuschätzen.

#### **4.1.1.3 Topografische Aktivierungsmuster**

Für jedes der Netzwerk-Modelle wurde die Aktivitätsausbreitung unter kontinuierlicher Aktivierung eines einzelnen Areals beobachtet. Es wurden 14 verschiedene Aktivitätsausbreitungen simuliert, wobei die aktivierten Areale denjenigen entsprachen, die in der experimentellen Studie des Katzenkortex stimuliert worden waren (Abb. 1B bis 6B in MacLean & Pribram, 1953). Die experimentellen Stimulationen waren durch lokale kortikale Applikation von Strychnin erreicht worden, einem in-vivo-Modell der epileptiformen Aktivitätsausbreitung im zerebralen Kortex (Holmes, 1994; Kehne et al., 1997; Rostock et al., 1997; siehe 3.1.1). Das Aufbringen von gesättigter Strychninlösung auf einen kleinen Kortexbereich (2 mm x 3 mm) bei 18 anästhesierten Katzen führte zu einer lokalen Disinhibition durch die Blockade von Glyzin- und GABA<sub>A</sub>-Rezeptoren (Klee et al., 1992; Shirasaki et al., 1991; Takahashi et al., 1994). Anschließend wurde die Ausbreitung der epileptiformen Aktivität in andere kortikalen Regionen mit bipolaren Elektroden untersucht. Für jeden der Stimulationsorte gaben MacLean & Pribram eine grafische Übersichtsdarstellung der im Gleichgewichtszustand resultierenden Aktivierungsmuster, worin sie zwischen starkem Feuern, kaum zu detektierendem Feuern, keinem Feuern und variablen Ergebnissen zwischen mehreren Tieren unterschieden (siehe Abb. 1-6 in MacLean & Pribram, 1953). Anhand der Übersichtsdiagramme und zusätzlicher Textangaben wurde die topografische Information in die von Scannell et al. (1995) verwendete Hirnkarte übertragen (Abb. 31) und für jedes der 65 Areale einer der folgenden Aktivitätswerte festgelegt: aktiv (für starke oder schwache Aktivität), inaktiv (keine Aktivität) oder unbekannt (bei variablen Ergebnissen oder fehlender Information). Von den 15 bei MacLean & Pribram beschriebenen Experimenten konnte das erste nicht adäquat nachgebildet werden, da das stimulierte Areal (Area piriformis anterior; Abb. 1A der Autoren) in der anatomischen Konnektivitätsmatrix von Scannell et al. (1995) nicht repräsentiert war.

#### **4.1.1.4 Statistische Auswertung**

Die Vergleiche zwischen den experimentell beobachteten Aktivierungsmustern und den stabilen Endmustern der simulierten Aktivitätsausbreitung wurden folgendermaßen durchgeführt: Die Abweichung wurde errechnet als der durchschnittliche Prozentsatz a) der Areale, die in der Simulation aktiviert, aber im Experiment inaktiv waren, in bezug auf alle experimentell inaktiven Areale, und b)

der Areale, die in der Simulation inaktiv, aber aktiv im Experiment waren, in bezug auf alle experimentell aktiven Areale. Der simulierte Aktivitätszustand in Arealen, deren experimentelle Aktivität unbekannt oder variabel war, wurde nicht berücksichtigt. Die Abweichungswerte konnten in Abhängigkeit von der maximalen Anzahl aktiver Areale, die durch den Parameter  $\alpha$  bestimmt wurde, gegeneinander aufgerechnet werden. Dieser einzige freie Parameter in den Simulationen wurde für jedes Experiment individuell so eingestellt, dass der Fehler minimiert wurde.

Der Fehler wurde für jedes der drei Konnektivitätsmodelle (experimentell begründet, Nächster-Nachbar, Nächster-und-übernächster-Nachbar) in allen 14 simulierten Experimenten errechnet. Zusätzlich wurden mehrere Kontrollberechnungen durchgeführt. Erstens war ursprünglich angenommen worden, dass das Verfahren der Strychnin-Neuronografie ausschließlich monosynaptische, aber keine transsynaptische Konnektivität darstellt (Dusser de Barenne & McCulloch, 1939; Frankenhaeuser, 1951; MacLean & Pribram, 1953).

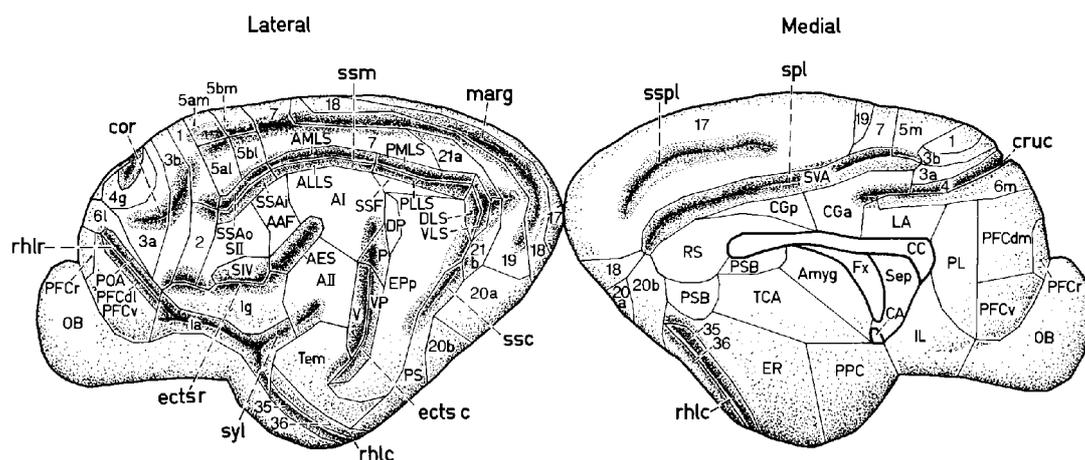


Abb. 31. Karte des zerebralen Kortex der Katze mit der von Scannell et al. (1995) verwendeten Parzellierung in lateraler (links) und medialer (rechts) Ansicht. Die Lage der Arealgrenzen ist nur als grober Anhaltspunkt zu werten. Auf folgende Areale wird im Text Bezug genommen: 20b, visuelles Areal auf dem hinteren Gyrus ectosylvius; 35, 36, Areale des perirhinalen Kortex; 7, multimodales sensorisches Assoziationsareal auf dem mittleren Abschnitt des Gyrus suprasylvius; CGp, hinterer Anteil des zingulären Kortex; EPp, ein visuelles und auditorisches Assoziationsareal auf dem hinteren Teil des Gyrus ectosylvius posterior; ER, entorhinaler Kortex; Ia, Ig, agranulärer bzw. granulärer Anteil der Insula; IL, infralimbisches Areal; LA, vorderer limbischer Kortex; PFCdm, dorsomedialer Präfrontalkortex; PFCr, rostraler Präfrontalkortex; PSb, prä-, para- und postsubikulärer Kortex; SVA, spleniales visuelles Areal; Tem, temporales auditorisches Feld. Die Abkürzungen der Sulci sind in Kleinbuchstaben angegeben: cor, sulcus coronalis; cruc, sulcus cruciatus; ectsc, ectsr, sulcus ectosylvius caudalis bzw. rostralis; marg, sulcus marginalis; rhlc, rhlr, sulcus rhinalis caudalis bzw. rostralis; spl, sulcus splenialis; ssc, ssm, sulcus suprasylvius caudalis bzw. medialis; sspl, sulcus suprasplenialis. (Kötter & Sommer, 2000).

Falls diese Vermutung zutreffen würde, dann sollte das iterative Verfahren der Aktivitätsausbreitung zu größeren Abweichungen führen als die einfache Aktivierung der unmittelbar efferent verbundenen Zielareale des stimulierten Areals. Zweitens, Young et al. (1994b) hatten die Abhängigkeit topologischer Analysen von Fehlern in der Einschätzung der Verbindungsdichten untersucht. Wir führten einen vergleichbaren Test auf die Abhängigkeit der Fehler von den Verbindungsdichten durch, in dem wir diese in weiteren Simulationen binär darstellten. Diese fünf Bedingungen wurden durch eine Varianzanalyse für multifaktorielle Daten miteinander verglichen (SPSS V7.5, SPSS Inc., Chicago, IL). Das Konnektivitätsmodell wurde hierbei als fester Faktor in den paarweisen Vergleichen der Haupteffekte betrachtet.

Schließlich wurden alle Simulationen auf Zufallsergebnisse hin überprüft. Dazu simulierten wir für jedes Konnektivitätsmodell 20 Kontrollen mit zufällig zugewiesenen Verbindungstopografien der entsprechenden Dichte und Verbindungsstärken. Für das Modell der monosynaptischen Aktivitätsausbreitung wurden 20 zufällige Aktivierungsmuster erzeugt, die dieselbe Anzahl aktiver Areale umfassten, wie durch die monosynaptischen Projektionen des stimulierten Areals erreicht wurden. Die mittleren Fehler für diese „echten“ und „zufälligen“ Topografien wurden in Abhängigkeit von einem f-Test mit dem t-Test für gleiche bzw. ungleiche Varianzen auf signifikante Unterschiede untersucht („Numerical Recipes“ Software). Die Unterschiede zwischen den Fehlern mit den „echten“ und den „zufälligen“ Topografien wurden so errechnet, dass positive Werte ein besseres Ergebnis für das „echte“ Modell bedeuteten als durch Zufall zu erwarten gewesen wäre. Diese Daten wurden durch eine Varianzanalyse für wiederholte Messungen untersucht (5 Gruppen, 14 Experimente, 20 Wiederholungen), die im übrigen der oben beschriebenen Varianzanalyse für multifaktorielle Daten entsprach.

Über die statischen Aktivierungsmuster hinaus erlaubten die Simulationen eine Betrachtung der kortikalen Ausbreitungswege in der Entwicklung der Aktivitätsmuster. Aufeinander folgende Schritte der sich entwickelnden Aktivierungsmuster wurden unter Verwendung der Mathematica Software (Wolfram Research Inc., Champaign, IL) nach Modifikation des WorldPlot-Softwarepakets auf die in Abb. 31 gezeigte Karte des zerebralen Katzenkortex projiziert.

#### 4.1.2 Ergebnisse

Tab. 3 zeigt, dass die Simulationen mit der experimentell begründeten Konnektivität, abgestuften Verbindungsstärken und dem iterativen Verfahren der Aktivitätsausbreitung durchschnittlich den geringsten Fehler lieferten ( $E_{\text{real}} = 18,2\%$ ). Am nächstbesten waren die nachbarschaftsbasierten Konnektivitätsmodelle, während die Binärdarstellung der Verbindungsstärken oder die auf monosynaptische Projektionen beschränkte Aktivitätsausbreitung zu deutlich höheren Fehlern führten.

Tab. 3. Durchschnittlicher Fehler über 14 Simulationen mit unterschiedlichen Verbindungsmodellen, Abstufungen der Verbindungsstärken und Prozeduren der Aktivitätsausbreitung. Die Mittelwerte (MW) und die Standardabweichungen (SA) der Fehler sind für jedes Modell separat dargestellt („echt“). Die mit „zufällig“ bezeichneten Werte wurden in Simulationen mit zufällig vertauschten Verbindungstopografien erhalten, während alle anderen Parameter mit denen der „echten“ Simulationen übereinstimmten. Die letzte Spalte gibt das Signifikanzniveau (p) für unterschiedliche Fehlermittelwerte zwischen den „echten“ und den „zufälligen“ Topografien an.

<b>Modell</b>	<b>„echt“</b>		<b>„zufällig“</b>		<b>p</b>
	<b>MW</b>	<b>SA</b>	<b>MW</b>	<b>SA</b>	
Experiment. begründet, iterativ, abgestuft	18,2	11,5	42,1	7,1	0,000
Experimentell begründet, iterativ, binär	26,9	13,7	38,1	5,8	0,012
Experimentell begründet, monosynaptisch	33,0	14,9	50,1	1,9	0,001
Nächster-Nachbar	20,4	14,1	39,7	4,1	0,000
Nächster-und-übernächster-Nachbar	20,0	17,3	37,3	5,5	0,003

Monosynaptische Aktivitätsausbreitung hatte die größten durchschnittlichen Fehler ( $E_{\text{real}} = 33,0\%$ ). Die Standardabweichungen waren für alle Modelle groß, so dass diese grobe Statistik nicht ausreichte, um signifikante Unterschiede zwischen den Modellen aufzuzeigen.

Abb. 32 zeigt eine detaillierte Darstellung der Unterschiede zwischen den drei Modellen mit experimentell begründeten Verbindungen in den 14 simulierten Experimenten. Obwohl die Variation der Fehler zwischen den Experimenten mit verschiedenen stimulierten Arealen groß war, besaßen die drei Fehlerkurven einen ähnlichen Verlauf. Dies deutet an, dass signifikante Unterschiede zwischen den drei Modellen bestehen könnten, wenn es möglich ist, den Einfluss der stimulierten Areale zu berücksichtigen. Eine Varianzanalyse bestätigte das Vorliegen signifikanter Unterschiede ( $p < 0,05$  über die fünf Modelle). Paarweise Vergleiche (Tab. 4, „echt“) zeigten, dass sich die Fehler der Simulation monosynaptischer Aktivitätsausbreitung signifikant von denen aller anderen Modelle mit Ausnahme des experimentell begründeten iterativen binären Modells unterschieden. Die anderen vier Modelle, einschließlich des experimentell begründeten iterativen binären Modells, ließen sich auf dieser Basis nicht voneinander unterscheiden.

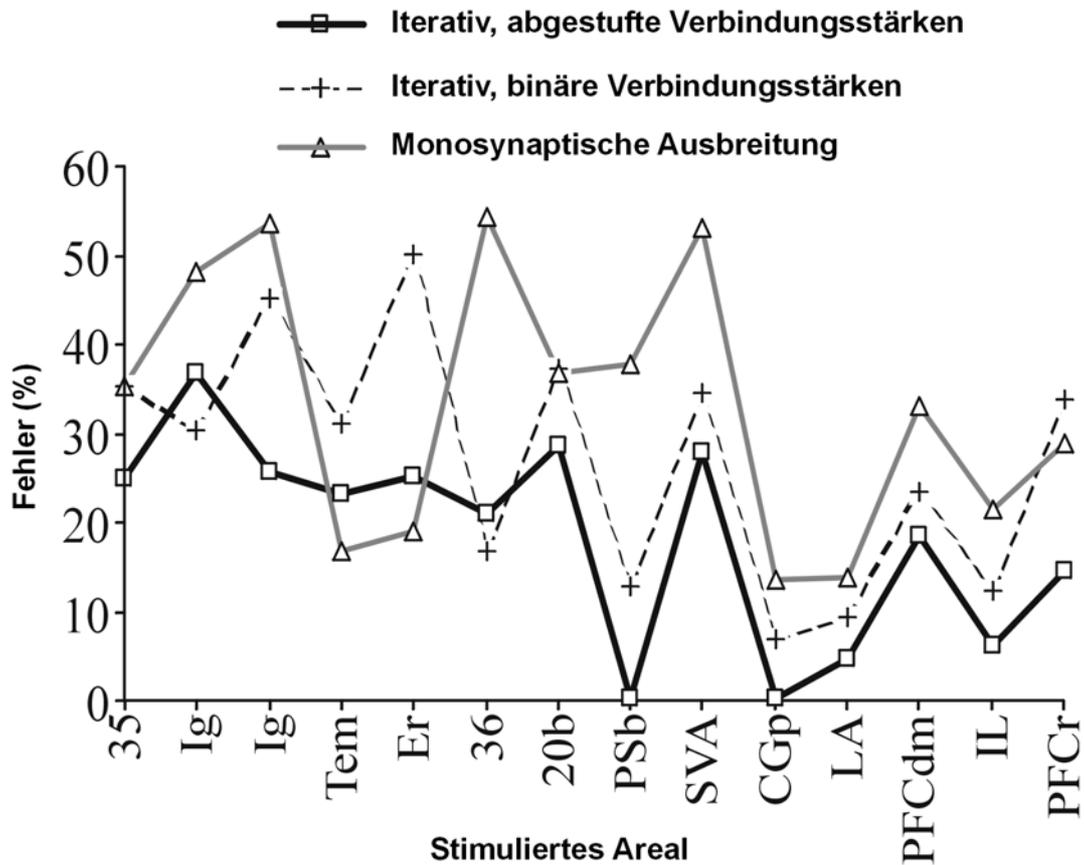


Abb. 32. Einfluss der Verbindungsstärke (abgestuft oder binär) und des Modus der Aktivitätsausbreitung auf die Fehler, die durch Simulation der Aktivitätsausbreitung unter ausschließlicher Verwendung von experimentell durch Tracing nachgewiesenen Verbindungen erhalten wurden. Der Modus der Aktivitätsausbreitung war entweder iterativ bis zum Erreichen der maximalen Anzahl aktivierter Areale oder beschränkt auf die monosynaptisch verbundenen Zielareale. Zur Erklärung der Arealnamen siehe Abb. 31. Die Verbindungslinien wurden hinzugefügt, um den parallelen Verlauf der Fehler in den drei Modellen hervorzuheben; sie deuten keine Interpolation zwischen den Experimenten an. (modifiziert nach Kötter & Sommer 2000).

Nachdem gezeigt worden war, dass die Strychnin-induzierten Aktivierungsmuster besser durch polysynaptisch iterative als durch monosynaptisch limitierte Aktivitätsausbreitung erklärt werden kann, gingen wir der Frage nach, ob sich auch der Einfluss der Konnektivitätsmodelle auf die simulierten Aktivierungsmuster nachweisen ließe. Der Schlüssel zu diesem Problem bestand in der vorherigen Beantwortung einer anderen Frage: Welcher Anteil der Fehler, die mit den verschiedenen Modellen erhalten worden waren, kann auf die spezifische Topografie der Verbindungen zurückgeführt werden im Gegensatz zu dem Anteil, der durch andere Faktoren wie z.B. die unterschiedlichen Verbindungsdichten oder ihre Abstufung bewirkt wird? Wir erhielten die Antwort durch zufällige Umordnung der Verbindungen und Wiederholung der Simulationen mit 20 solchen Zufallstopografien für jedes Modell.

Tab. 4. Signifikanz der Unterschiede in paarweisen Vergleichen der fünf Modelle. Die Modelle waren 1) experimentell begründet iterativ abgestuft, 2) experimentell begründet iterativ binär, 3) experimentell begründet monosynaptisch, 4) Nächster-Nachbar-Konnektivität, 5) Nächster-und-übernächster-Nachbar-Konnektivität. Die Werte wurden durch Varianzanalyse und Analyse der Haupteffekte unter zwei Bedingungen erhalten: Fehler bei der Simulation des „echten“ Modells (links) und Fehlerdifferenzen zwischen dem „echten“ und dem „zufälligen“ Modell (rechts).

Modell	„echt“				„zufällig“ minus „echt“			
	1	2	3	4	1	2	3	4
2	0,116				0,000			
3	0,008	0,263			0,000	0,000		
4	0,688	0,239	0,024		0,000	0,000	0,059	
5	0,733	0,216	0,020	0,952	0,000	0,000	0,891	0,080

Zufällige Umordnung der Verbindungen führte zu größeren mittleren Fehlern in der Replikation der elektrophysiologischen Experimente als die jeweiligen „echten“ Verbindungstopografien, aber zu geringeren Standardabweichungen aufgrund der 20 Wiederholungen (Tab. 3, „zufällig“). Jedes Paar von „echten“ und „zufälligen“ Topografien unterschied sich signifikant im mittleren Fehler. Das Signifikanzniveau war am geringsten für das experimentell begründete binäre Modell und am höchsten für das experimentell begründete abgestufte und das Nächster-Nachbar-Modell (Tab. 3, „p“). Abb. 33 spezifiziert den Unterschied zwischen „echt“ und „zufällig“ für jedes Experiment unter Verwendung des experimentell begründeten iterativen abgestuften Modells. Weder die experimentell begründeten noch die nachbarschaftsbasierten Verbindungen unterschieden sich in den Simulationen von zufälligen Verschaltungen signifikant in jedem einzelnen Experiment. Jedoch besaß allein das experimentell-begründete iterative abgestufte Modell eine konsistente Vorhersagekraft in jedem einzelnen Experiment, während die nachbarschaftsbasierten Modelle und das experimentell-begründete binäre Modell in einigen Experimenten besser und in anderen schlechter abschnitten als ihre „zufälligen“ Gegenstücke

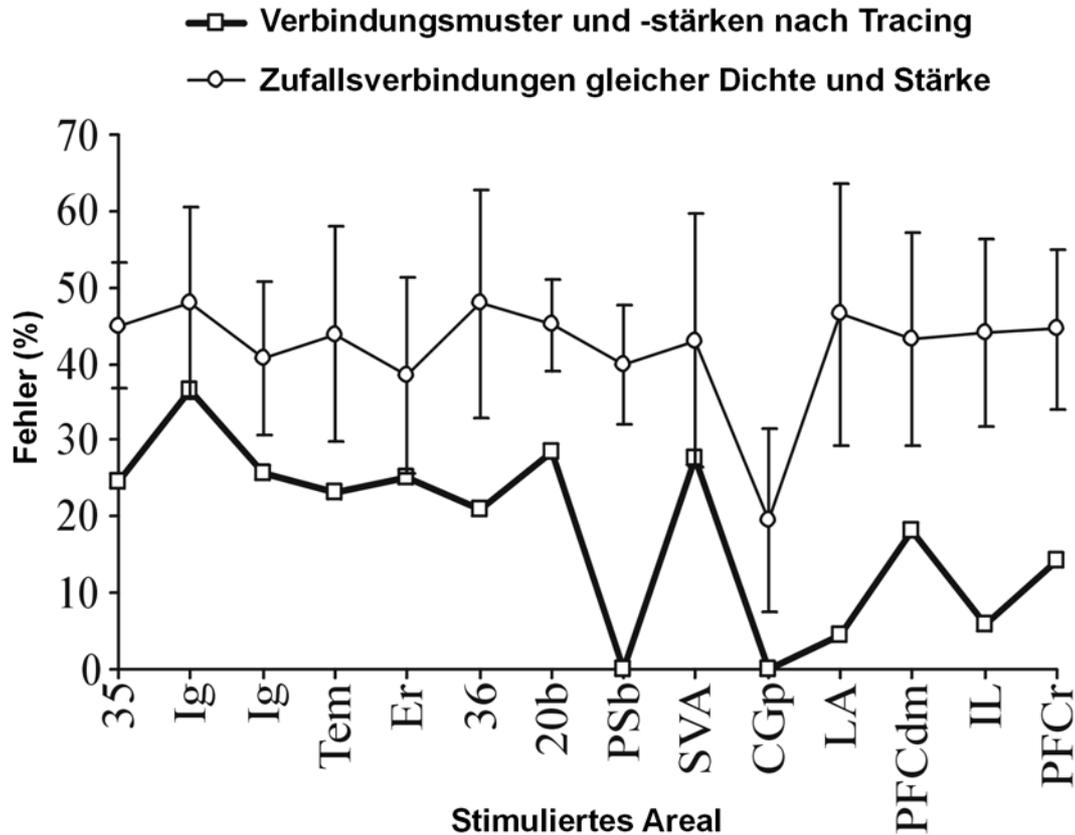


Abb. 33. Fehler in den Simulationen der kortikalen Aktivitätsausbreitung unter Verwendung des experimentell begründeten iterativen abgestuften Modells im Vergleich zu 20 Modellen mit zufälliger Konnektivität derselben Dichte und Abstufung (Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung). Die Verbindungslinien zwischen den Experimenten dienen der Verdeutlichung und bedeuten keine Interpolation. (modifiziert nach Kötter & Sommer 2000).

Durch Differenzbildung zwischen den Fehlern, die bei jedem der fünf Modelle unter Verwendung der „echten“ bzw. der „zufälligen“ Konnektivität auftraten, konnten wir nun den Anteil des Fehlers feststellen, der durch die Topografie bedingt war. Diese Fehlerdifferenzen wurden einer Varianzanalyse für wiederholte Messungen unterzogen (fünf Modelle, 14 Experimente, 20 Wiederholungen), die hochsignifikante Unterschiede zwischen den fünf Modellen nachwies ( $p < 0,001$ ). Post-hoc paarweise Vergleiche zeigten (Tab. 4, „zufällig“ minus „echt“), dass sich die experimentell begründeten iterativen abgestuften und binären Modelle mit hoher Signifikanz voneinander und von allen anderen Modellen unterschieden. Auf der anderen Seite waren die zwei nachbarschaftsbasierten und das experimentell begründete monosynaptische Modell nicht unterscheidbar im Hinblick auf ihre Differenz zu zufälligen Netzwerken. Diese Unterscheidung ließ sich durch eine Darstellung der kumulativen Fehlerreduktion (d.h. der Summe der Differenzen zwischen „zufällig“ und „echt“) über die 14 Experimente illustrieren (Abb. 34). Die relativ geringen

Fehlerunterunterschiede für die fünf Modelle summierten sich über die Experimente und zeigten die Überlegenheit des experimentell begründeten iterativen abgestuften Modells über die nachbarschaftbasierten Konnektivitätsmodelle. Die letzteren verhielten sich sehr ähnlich wie das experimentell-basierte Modell mit monosynaptischer Aktivitätsausbreitung. Das experimentell-basierte iterative binäre Modell wies die geringste Gesamtverbesserung gegenüber der entsprechenden Zufallskonnektivität auf und lieferte in einigen Experimenten sogar schlechtere Ergebnisse als die Zufallsverschaltungen.

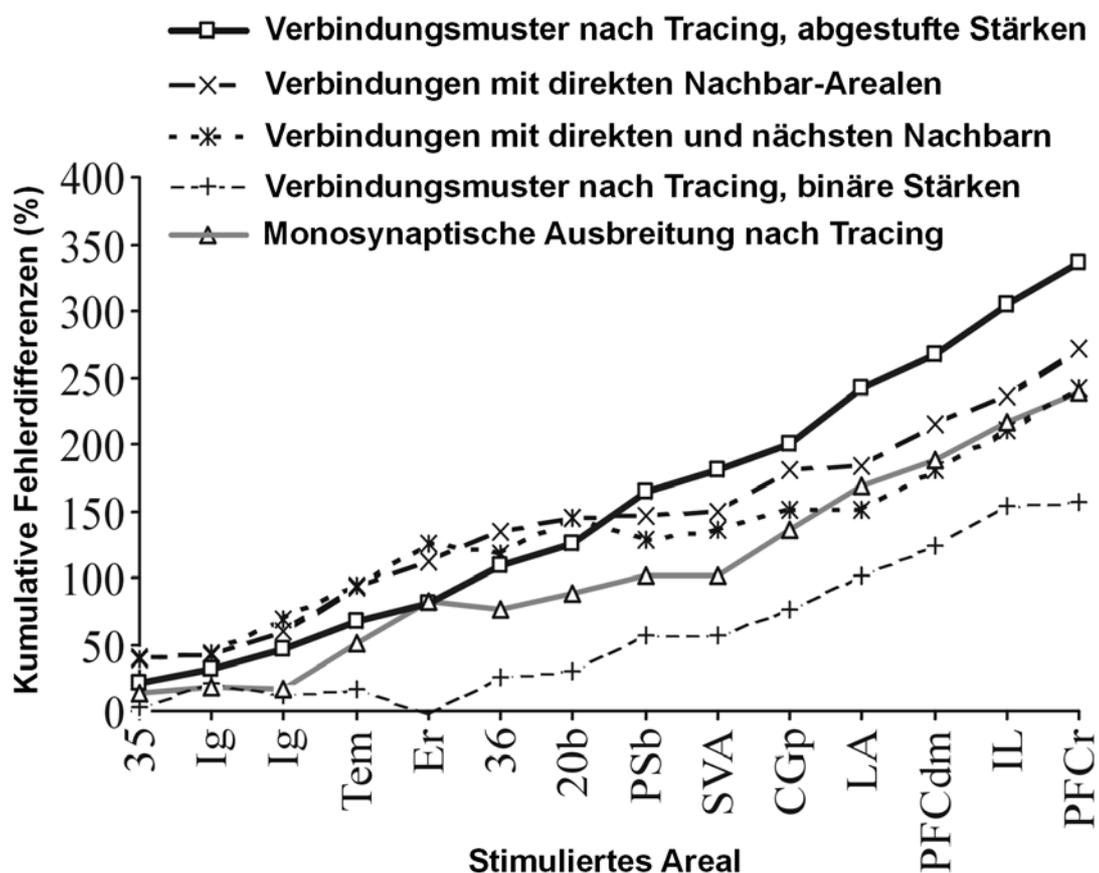


Abb. 34. Kumulative Fehlerdifferenzen zwischen „zufälligen“ und „echten“ Verbindungsmodellen über 14 neuronografische Experimente. Die kumulative Fehlerdifferenz nimmt ab, wenn die „zufällige“ Umordnung der Konnektivität zu besseren Ergebnissen führt als die „echte“ Konnektivität. Die Linien dienen der besseren Unterscheidung der fünf Modelle und bedeuten keine Interpolation. (modifiziert nach Kötter & Sommer 2000).

### 4.1.3 Diskussion

Diese Simulationsstudie zur Untersuchung kortikaler Struktur-Funktionsbeziehungen ist ein direkter Test der Hypothese, dass experimentell nachgewiesene Konnektivität ein wichtiger Faktor für die kortikale Aktivitätsausbreitung ist. Um den Einfluss anderer möglicher Faktoren zu minimieren, waren wir darauf bedacht, ein extrem einfaches Modell des Kortex und der kortikalen Interaktionen zu verwenden, und verwendeten das gleiche Modell in allen Bedingungen. Selbstverständlich wird diese Simplifikation der biologischen Situation nicht gerecht, und wir haben keinen Grund anzunehmen, dass die Mikrostruktur kortikaler Areale vernachlässigt werden dürfe. Die Herausforderung an dieser Stelle war jedoch nicht, ein Netzwerk zu erstellen, das ausreichend komplex wäre, um jedes experimentelle Aktivitätsmuster nachzubilden, sondern einen aussagekräftigen Test der Bedeutung von Kenntnissen der kortikalen Assoziationsfasern für die Vorhersage der Aktivierungsausbreitung in diesem Netzwerk zu liefern. Unter diesem Gesichtspunkt war die Simplizität des Modell eine Notwendigkeit, um Ergebnisse zu erhalten, deren Validität nicht durch unkontrollierte Einflussfaktoren vermindert würde.

Der deutlich höhere mittlere Fehler, der durch monosynaptische im Vergleich zu iterativer Aktivitätsausbreitung mit demselben experimentell begründeten Modell erhalten wurde, ist ein starkes Argument gegen die Annahme, dass Strychnin-Neuronografie ausschließlich monosynaptische Projektion zwischen kortikalen Arealen nachweist. Obwohl der mittlere Fehler ein sinnvolles Maß beim Vergleich verschiedener Simulationsprozeduren für dasselbe Netzwerkmodell darstellt, ist seine Verwendung für Vergleiche zwischen verschiedenen Netzwerkmodellen eingeschränkt, da zusätzliche Unterschiede in der Dichte und den Abstufungen der Verbindungen bestehen. Daher liefert die Reduktion des Fehlers zwischen dem „echten“ und dem entsprechenden „zufälligen“ Modell eine bessere Einschätzung der spezifischen Einflüsse von Verbindungsdichte und -abstufung. Hier zeigte sich das experimentell begründete iterative abgestufte Modell gegenüber allen anderen Modellen als deutlich überlegen. Im Vergleich zu den nachbarschaftsbasierten Modellen war diese klare Überlegenheit nicht unbedingt zu erwarten, da 1) ein Teil der Aktivitätsausbreitung über die Kontinuität der grauen Substanz zu benachbarten Arealen erfolgen könnte und 2) eine erhebliche Überlappung zwischen der experimentell nachgewiesenen und der nachbarschaftsbasierten Konnektivität besteht. Scannell et al. (1995) errechneten zum Beispiel, dass das Nächster-Nachbar-Modell 25,5% der experimentell beobachteten Verbindungen erklärt, das Nächster-und-übernächster-Nachbar-Modell sogar 56,0%. Andererseits sind 69,0% der Nachbar-Verbindungen tatsächlich experimentell bestätigt, aber nur 48,5% der Verbindungen im Nächster-und-übernächster-Nachbar-Modell. Trotz einer erheblichen Überlappung zwischen experimentell nachgewiesenen und nachbarschaftsbasierten Verbindungen reichen also die übrigen Diskrepanzen aus, um einen klaren Leistungsunterschied zu

bewirken. Gegenüber dem experimentell basierten binären Modell war die Abstufung der existierenden Verbindungsstärken ein klarer Vorteil. Dies scheint im Gegensatz zu den Befunden von Young et al. (1994b) zu stehen, die fanden, dass abgestufte und binäre Verbindungen ähnliche Konfigurationen in den topologischen Analysen struktureller Daten lieferten. Die ähnlichen Verläufe der Fehlerkurven über die 14 Experimente in Abb. 32 bestätigen jedoch das unterschiedliche Verhalten der zwei Modelle hinsichtlich der Vorhersage der Aktivitätsausbreitung. Mehrere Erklärungen kommen für diesen scheinbaren Widerspruch infrage. Erstens ist es möglich, dass besonders unter den als schwach eingestuften Verbindungen falsch positive Werte vorliegen, wo sie nicht von der Hintergrundmarkierung unterschieden werden konnten (Scannell et al., 1995). Zweitens haben existente und abwesende Verbindungen auf topologische Analysen deutlich andere Auswirkungen als auf iterative Prozeduren für die Ausbreitung von Netzwerkaktivität.

Nach dem Nachweis eines Zusammenhangs zwischen anatomischer Konnektivität und Aktivitätsausbreitung ist es angebracht, mögliche Gründe für die verbleibenden Differenzen zwischen den Simulationen und den Experimenten zu diskutieren. Ein Grund für diese Differenzen findet sich in der mangelnden Präzision der zugrunde liegenden Daten: Die anatomischen Informationen in der Sammlung von Scannell et al. (1995) waren sicherlich unvollständig (siehe Hilgetag & Grant, 2000; Scannell et al., 2000). Beispielsweise waren die allokortikalen Regionen nicht detailliert repräsentiert, einige Areale (präpiriformer Kortex, kortikoamygdaloide Transitionsarea, Bulbus olfactorius) fehlten sogar vollständig. Dennoch zeigen globale Analysen des kortikalen Netzwerks der Katze (Hilgetag et al., 2000), dass durch die vorhandenen Daten ein effizient strukturiertes Netzwerk mit dichten Arealgruppierungen und vergleichsweise kurzen Pfadlängen beschrieben wird (siehe 3.1.6). Die elektrophysiologischen Daten unterliegen zusätzlichen Einschränkungen: Obwohl weitere Untersuchungen der Strychnin-induzierten Aktivitätsausbreitung im zerebralen Katzenkortex vorliegen (z.B. Garol, 1942a; Garol, 1942b), haben wir uns auf eine Arbeit beschränkt (MacLean & Pribram, 1953), da diese eine homogene Gruppe von umfangreichen Experimenten umfasste, die relativ gut dokumentiert war. Eine globale Netzwerkcharakterisierung aufgrund der funktionellen Verbindungsmatrix durch Clusterindices und Pfadlängen war nicht hilfreich, da die Beschränkung auf 14 Stimulationsexperimente mehrere kleine Arealgruppen lieferte, die getrennt waren und kaum rückkoppelnde Verbindungen besaßen. Wo globale Netzwerkanalysen versagen, kann eine Simulationsstudie jedoch noch immer sinnvoll eingesetzt werden, wie hier gezeigt wurde. Ein weiterer Grund für mangelnde Präzision war die topografische Zuordnung von strukturellen und funktionellen Daten. Sowohl Scannell et al. (1995) als auch MacLean & Pribram (1953) zeigten schematische Lateral- und Medialansichten des Katzenkortex, die eine Zuordnung nur in bezug auf grobe Landmarken, wie die größeren Sulci, zulassen. Regionen mit starker Krümmung (Insula, ventrale Anteile frontaler und temporalen Regionen) konnten nur mit beträchtlicher Unsicherheit zugeordnet werden. Diese Unsicherheit

lässt sich dann reduzieren, wenn mehr und detailliertere Daten vorliegen, wie zur Strychnin-Neuronografie des Makakenkortex (siehe 3.2; Stephan et al., 2000a), und wenn objektive Verfahren für die Zuordnung unterschiedlicher Parzellierungsschemata eingesetzt werden können (siehe 3.1.4; Stephan et al., 2000b).

Ein weiterer Grund für Differenzen ist die Simplizität des Modells, die nicht für jedes Aktivierungsmuster eine fehlerfreie Reproduktion zulässt. In einigen Simulationen verlief die Aktivitätsausbreitung durch ein fehlerfreies Muster hindurch und erreichte eine ähnliche, aber nicht fehlerfreie Endaktivierung. Selbst wenn also das Modell einen Weg von dem initial stimulierten Areal zu dem korrekten Zielmuster aufwies, waren die experimentell beobachteten Muster nicht notwendigerweise Fixpunkt-Attraktoren des simulierten Netzwerks. Von diesem Ausgangspunkt aus können jedoch weitere Hypothesen über maßgebliche Faktoren für die Aktivitätsausbreitung untersucht werden. Dazu zählen beispielsweise unterschiedliche Überleitungszeiten zwischen den Arealen, Unterschiede in der intrinsischen Aktivitätsverarbeitung der Areale (z.B. in Abhängigkeit von Vorwärts- und Rückwärtsverbindungen zwischen kortikalen Arealen) oder dem Vorhandensein einer granulären Schicht IV. Wie in anderen theoretischen Untersuchungen (Hilgetag et al., 1996; Jouve et al., 1998; Young, 1993; Young et al., 1994b) sind Vorhersagen möglich hinsichtlich der Kopplungsstärke von unbekanntem Verbindungen, die zu einer möglichst fehlerfreien Reproduktion der experimentell beobachteten Aktivierungsmuster führen würden.

Obwohl jedes der Endmuster, das in den experimentell begründeten iterativ abgestuften Simulationen der 14 Experimente erhalten wurde, anders aussah, zeigten doch viele davon bestimmte konstante Merkmale. Die Aktivierungsmuster beinhalteten regelmäßig ventrolaterale Areale einschließlich zingulärem Kortex, Arealen LA, PL und medialem Präfrontalkortex. (Abb. 35). Zwei weitere häufig aktivierte Areale waren der Gyrus ectosylvius posterior (EPP) und das Areal 7, die experimentell auf Stimuli in mehreren Sinnesmodalitäten reagieren. Die häufige Aktivierung dieser Areale steht in Beziehung zu der Auswahl der Stimulationsorte in ringförmiger Anordnung um den Hemisphärenstiel. MacLean & Pribram (1953) hatten ihre Studie gerade darauf angelegt, Hinweise auf eine gegenseitige Aktivierung dieser Areale zu liefern und betrachteten diese Aktivierungsmuster als ein definierendes Kriterium für die Existenz eines „limbischen Systems“. Tatsächlich deuten sowohl Struktur- als auch Funktionsdaten auf dicht vernetzte Arealgruppen in ventralen und frontomesialen Kortexregionen sowie auf Aktivitätsfortleitung entlang des Gyrus suprasylvius in der kaudorostralen Richtung. Diese Übereinstimmung von anatomisch und funktionell definierten Arealgruppen reicht jedoch weder aus, ein kortikales „System“ zu definieren, noch dazu, seine „limbischen“ Qualitäten nachzuweisen (Kötter & Meyer, 1992; Kötter & Stephan, 1997).

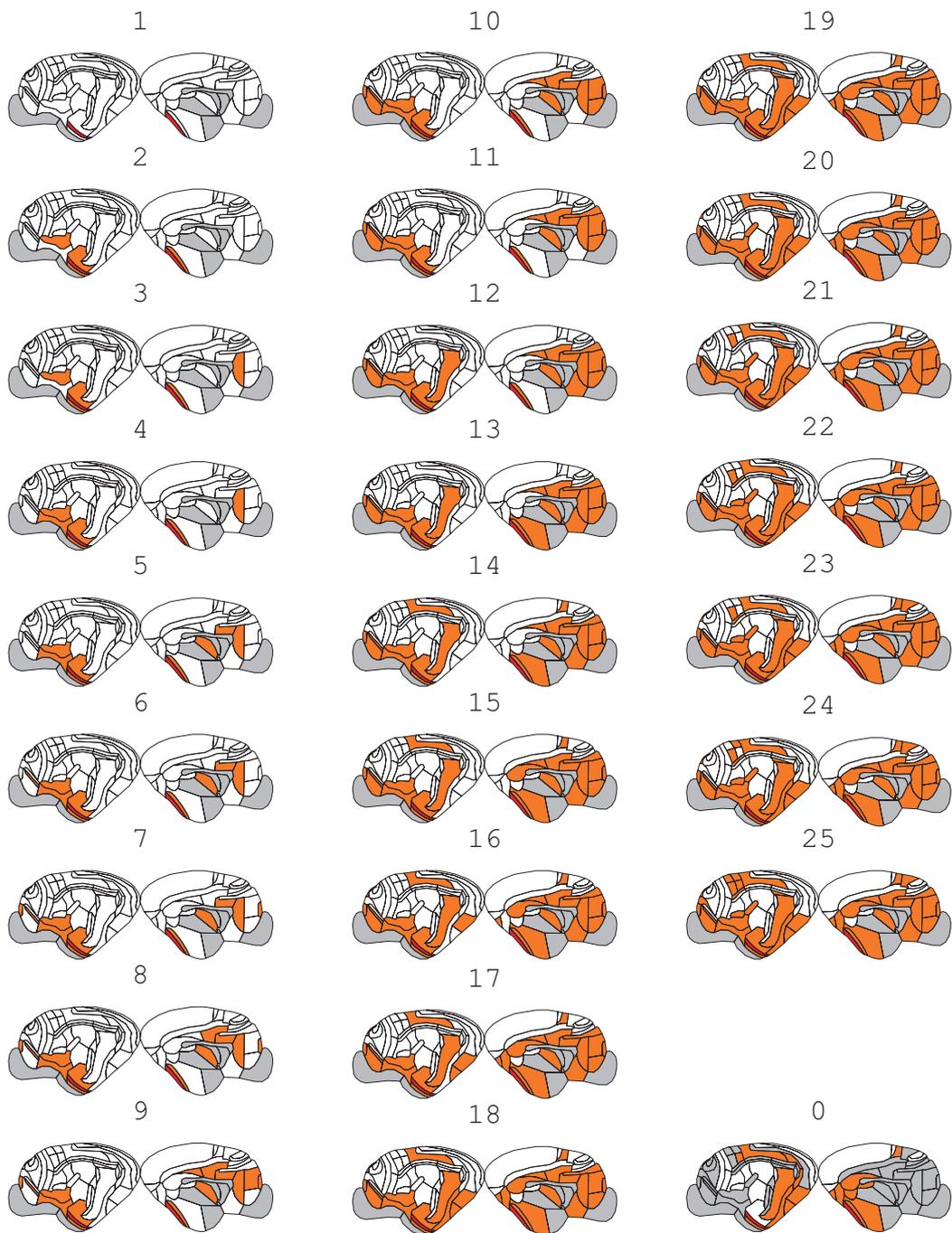


Abb. 35. Sukzessive Schritte simulierter Aktivitätsausbreitung im experimentell begründeten iterativen abgestuften Modell des Katzenkortex. (0) stellt ein von Pribram & MacLean (1953, deren Abb. 2B) experimentell beobachtetes Aktivierungsmuster dar. Der stimulierte Teil des Gyrus fusiformis ist rot dargestellt, aktivierte Areale sind orange, inaktive Areale sind weiß, Areale unbekannter oder variabler Aktivität sind grau. (1): Die Simulation begann mit der Stimulation (rotes Areal) der Area 36 im perirhinalen Kortex. (2) - (11): Die simulierte Aktivität (orange) breitete sich auf ventrale und frontomesiale Areale aus. (12) - (25): Nach Aktivierung der Areale EPP und 7 im Parietalkortex verlief die Aktivitätsausbreitung rostralwärts zu allen Subarealen der Area 5. (Modifiziert nach Kötter & Sommer 2000).

Computersimulationen haben noch einen weiteren Vorteil gegenüber statischen Analysen der Konnektivität, wie z.B. NMDS (Young et al., 1995) oder OSA von Tracingdaten (Hilgetag et al., 2000), oder Strukturgleichungsmodellierung von Korrelationen aus der funktionellen Bildgebung (Büchel & Friston, 1997; McIntosh & Gonzalez-Lima, 1994): die explizite Berücksichtigung der Zeitdimension. Eine auffällige Beobachtung während der Simulationen war die selektive Aktivitätsausbreitung entlang des Gyrus suprasylvius. Dieser Ausbreitungsweg war bereits von MacLean & Pribram (1953) mittels Strychnin-Neuronografie beobachtet worden und ist nicht allein durch Nachbarschaftsbeziehungen zu erklären. Um so interessanter ist die zeitliche Abfolge dieses Aktivierungsverlaufs beginnend in Area 7 des posterioren Parietalkortex und nach rostral fortschreitend auf alle Anteile der Area 5. Eine Literaturrecherche zu diesem bemerkenswerten Befund zeigte, dass Amzica & Steriade (1995) die klare Richtungspräferenz der Aktivitätsausbreitung von posterior nach anterior in intra- und extrazellulären gepaarten Ableitungen von anterioren und posterioren Anteilen des Gyrus suprasylvius dokumentiert hatten (siehe Abb. 2 in Amzica & Steriade, 1995). Weitere Beispiele und Animationen der simulierten Aktivitätsausbreitung sind abrufbar unter <http://www.hirn.uni-duesseldorf.de/rk/cx/catnetwork/sims.htm>.

Die dargestellten Untersuchungen liefern einen klaren Nachweis der Bedeutung anatomischer Tracing-Experimente für das Verständnis kortikaler Aktivitätsausbreitung. Die Aussagekraft ist zunächst beschränkt auf die Ausbreitung epileptiformer Aktivität, die aufgrund ihrer Intensität möglicherweise stärker durch die globale Konnektivität des Netzwerks geformt wird als physiologische Aktivität bei kognitiven Prozessen. Nichtsdestoweniger bieten Simulationen auf der Basis von experimentell nachgewiesenen Assoziationsfaserverbindungen die Möglichkeit, den Einfluss pharmakologischer und chirurgischer Interventionen auf die Topografie der epileptiformen Aktivitätsausbreitung zu untersuchen. Ein weiterer Schritt wäre die Evaluation der Aktivierungsmuster kortikaler Areale in Verhaltenssituationen, wie sie z.B. mit der 2-Deoxy-Glukose-Methode bei Katzen bestimmt worden sind (Vanduffel et al., 1995; Vanduffel et al., 1997). Im Hinblick auf Primatengehirne wäre die Anwendung dieses Simulationsverfahrens auf die Aktivierungsmuster in funktionellen bildgebenden Studien von Interesse. Die Simulation ermöglicht eine komplementäre Strategie zu Strukturgleichungsmodellen, die auf der Basis von willkürlich herausgegriffenen neuroanatomischen Verbindungen erstellt wurden (Büchel & Friston, 1997; McIntosh & Gonzalez-Lima, 1994).

## 4.2 Simulation der zeitlichen Aktivitätsausbreitung

Nachdem in 4.1 ein Zusammenhang zwischen der anatomischen Verbindungsstruktur und statischen Aktivierungsmustern hergestellt wurde und erste Schritte zur zeitlichen Darstellung von Aktivitätsausbreitung unternommen wurden, lässt sich aufgrund der vorliegenden Daten aus Multielektrodenableitungen bei Makaken die zeitliche Propagation von Aktivität im visuellen System genauer analysieren. Bullier & Nowak lieferten eine Literaturübersicht über die Reaktionszeiten einer Reihe von Arealen im Primatenkortex auf visuelle Stimuli. Bei relativ großer Streuung der Latenzen in den meisten Arealen zeigte sich eine grobe Abfolge der Latenzen in sequenziell verschalteten Arealen mit einem Inkrement von etwa 10 ms je Areal, sowie eine generelle Unterteilung in schnell und in langsam reagierende Hirnregionen, wobei die schnellen dem Parietalkortex und dem frontalen Augenfeld (FEF) mit vielen myelinisierten Fasern, die langsamen dagegen überwiegend dem Temporal- und Präfrontalkortex zugeordnet werden konnten.

Ein genauerer Vergleich der Reaktionszeiten wurde durch Studien ermöglicht, in denen die Autoren viele Areale unter vergleichbaren Versuchsbedingungen untersuchten. Eine dieser Studien (Schmolesky et al., 1998) beschreibt die Reaktionszeiten auf 0,5 s dauernde Lichtblitze bei anästhesierten Makaken in den Arealen V1, V2, V3, V4, MT, MST und FEF. Für jedes der Areale wurden die kumulativen Antwortzeiten über alle gemessenen Neurone aufgetragen, die sich als sigmoide Kurven darstellten (Abb. 36). Mit zunehmenden Latenzmittelwerten nahm die Steigung der Kurven ab. Von dem typischen Verlauf wich die Kurve für das Areal MT etwas ab, da offenbar ein kleiner Anteil der Neurone mit erheblich geringerer Verzögerung reagierte als die übrigen Neurone.

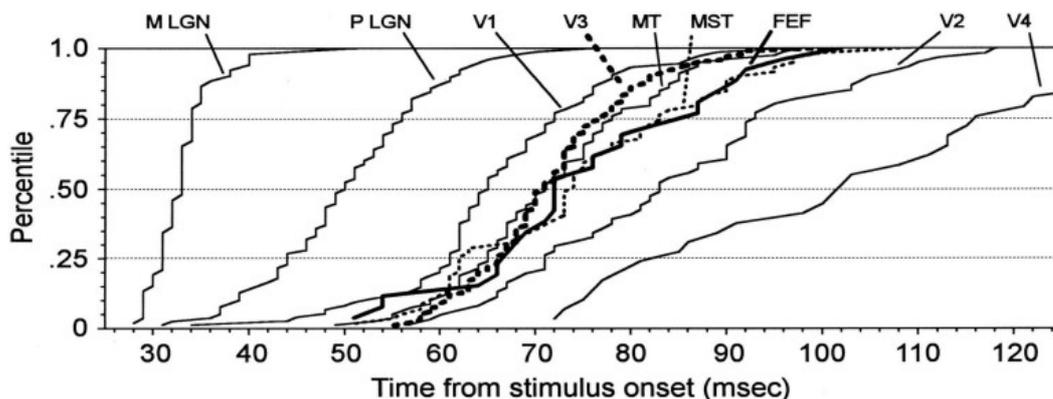


Abb. 36. Kumulative Verteilungen visuell evozierter Antwortzeiten im Corpus geniculatum laterale (M LGN und P LGN), striären (V1) und extrastriären visuellen Arealen (übrige) nach Schmolesky et al. (1998). Die Perzentilen der Zellen, die zu antworten begonnen hatten, sind als Funktion der Zeit seit der Stimuluspräsentation aufgetragen. Die Kurve für das Areal V4 wurde abgeschnitten, um die Auflösung der anderen Kurven zu verbessern; sie reicht bis 159 ms.

Aus theoretischer Sicht lässt sich die Abfolge der Antwortzeiten über die kortikalen Areale am einfachsten durch ein Modell erklären, das den Neuronen eines jeden Areals normalverteilte Antwortzeiten auf die visuell induzierte afferente Aktivität zuordnet. In diesem Fall würden sich die Varianzen der konsekutiven Verarbeitungsschritte aufaddieren (Abb. 37, unten links) und zu einer Abflachung der kumulativen Antwortfunktionen führen (Abb. 37, unten rechts). Die wesentliche Stärke dieses sehr einfachen Modells ist, dass es analytisch behandelt und damit vollständig gelöst werden kann. Außerdem folgt aus diesem Modell die Vorhersage, dass durch die Summierung der Varianzen ein linearer Zusammenhang zwischen den mittleren Antwortzeiten der visuellen Areale und der Variabilität dieser Antwortzeiten bestehen könnte.

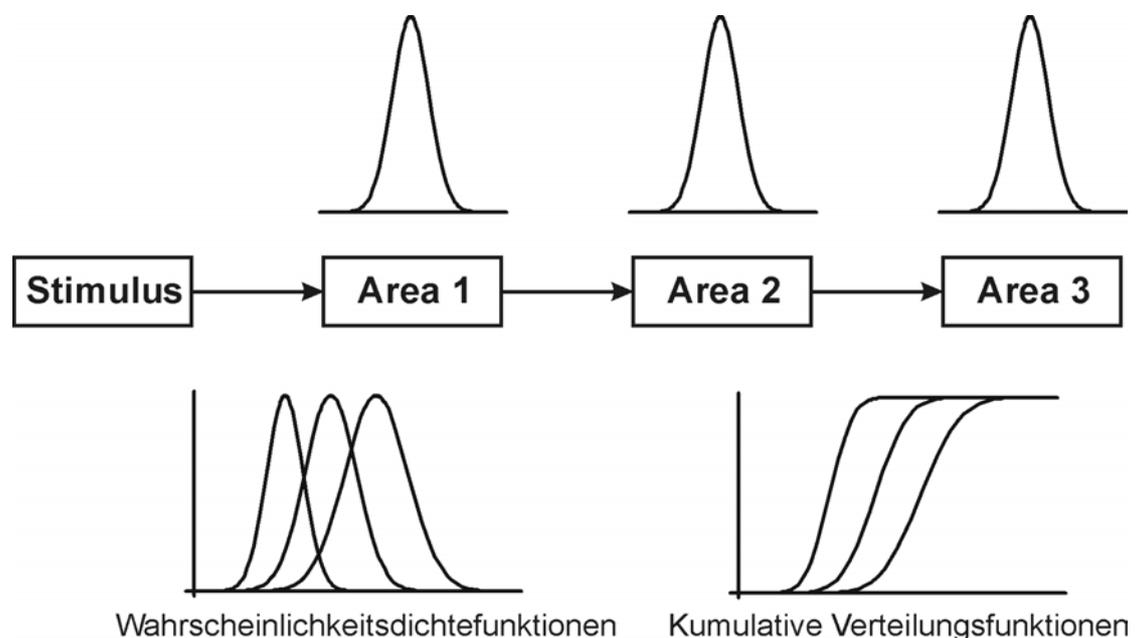


Abb. 37. Schematische Veranschaulichung der Addition der Varianzen bei normalverteilten Antwortfunktionen in drei konsekutiven Verarbeitungsstationen eines sensorischen Systems und entsprechende Abflachung der kumulativen Antwortfunktionen.

Die Hypothese der Linearität des Zusammenhangs von Mittelwert und Varianz der Antwortzeiten lässt sich direkt grafisch überprüfen. Neben der bereits dargestellten Studie von Schmolesky et al. (1998) eignen sich insbesondere die Daten von Schroeder et al. (1998), die im wesentlichen als Feldpotenzial-Ableitungen mit Multikontakt-Elektroden in multiplen visuellen Arealen an wachen Affen erhoben wurden. In Abb. 38 wurden Mittelwert und Varianz der frühesten Antwortzeiten jeweils für alle untersuchten Areale der Studien von Schmolesky et al. (1998) und Schroeder et al. (1998) gegeneinander aufgetragen. Es zeigt sich, dass die Latenzen auf visuelle Stimuli in Einzelzelleitungen an den anästhesierten Affen (links) deutlich länger und stärker variabel sind als die entsprechenden Ergebnisse der Feldpotenzialmessungen an den wachen Tieren (rechts).

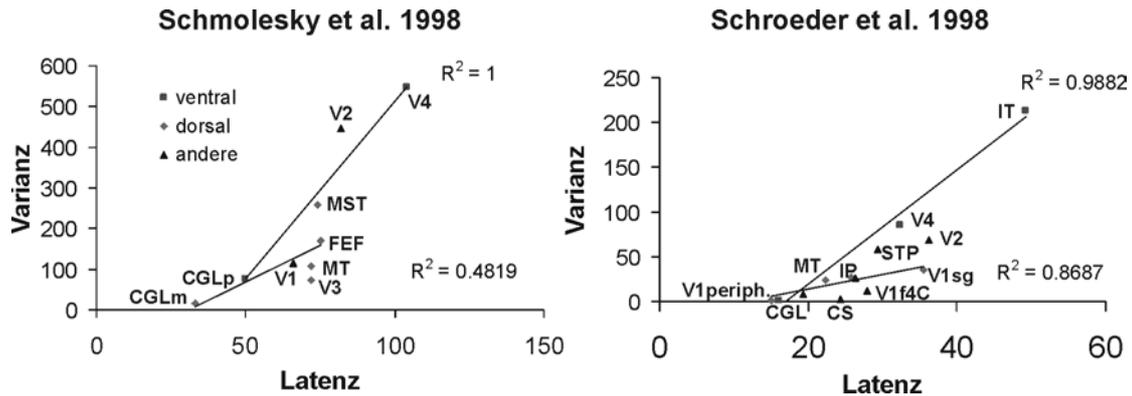


Abb. 38. Varianz versus Mittelwert der frühesten Antwortzeiten visueller Areale auf Blitzstimulation in den Studien von Schmolecky et al. (1998; links) und Schroeder et al. (1998; rechts). Die Geraden stellen die linearen Regressionslinien der minimierten Fehlerquadrate für die jeweiligen Strukturen des parvozellulären/ventralen Stroms und des magnozellularären/dorsalen Stroms dar.

Da im visuellen System zwei Verarbeitungsströme unterschieden werden, nämlich einerseits der parvozelluläre/ventrale Strom für die Objekterkennung und andererseits der magnozellularäre/dorsale Strom für räumliche Anordnung und Bewegung, liegt es nahe, zwei separate Regressionslinien für die a-priori bestimmten Areale zu errechnen. Obwohl nur ein Teil der untersuchten Strukturen eindeutig dem einen oder anderen Strom zugeordnet werden kann, zeigen die zwei Trendlinien in beiden experimentellen Datensätzen konsistente Unterschiede in ihren Steigungen: die Variabilität der Latenzen ist deutlich geringer in Strukturen des magnozellularären/dorsalen Stroms als in denen des parvozellulären/ventralen Stroms, und zwar in bezug auf die gleichen mittleren Antwortzeiten. In anderen Worten: die Kosten für die Dauer der Aktivitätsausbreitung in Form von zusätzlicher Variabilität der Antwortzeiten ist geringer im dorsalen als im ventralen Strom. Alternativ zur a-priori-Zuordnung der Strukturen zu ventralen und dorsalen Verarbeitungsströmen lassen sich die Diagramme in Sektoren zunehmender Mittelwert/Varianz-Relationen aufteilen. Diese zeigen, dass der Colliculus superior, die supragranulären Schichten der Area V1 (rechtes Diagramm) sowie die Area V3 (linkes Diagramm) eine geringe Antwortvariabilität aufweisen, die typisch für Strukturen des dorsalen Stroms ist. Das Areal MST dagegen ist eine Ausnahme, da es trotz seiner kurzen Antwortlatenzen eine hohe Variabilität der Antworten besitzt, die typisch für den ventralen Strom ist.

Ein festes Inkrement des Mittelwerts oder der Varianz der frühesten Antwortzeiten, das Aufschluss über die Anzahl der Verarbeitungsstufen geben würde, lässt sich in diesen Daten im Gegensatz zu den Aussagen von Schmolecky et al. (1998) nicht erkennen (“the putative M and P streams could pass staggered but parallel signals with 10- to 15-ms delays between each stage of activation”; Schmolecky et al. 1998, S. 3273).

### 4.2.1 Methoden

Die Simulation der Aktivitätsausbreitung im visuellen Kortex ist auf umfangreiche experimentelle Daten angewiesen, die jedoch nicht für alle Areale in gleichem Detail und in gleicher Genauigkeit erhältlich sind. Dies Problem lässt sich teilweise dadurch umgehen, dass verschiedene Teile des Systems in unterschiedlichem Detail nachgebildet werden. Dies wiederum erfordert eine Implementation, die in der Lage ist, unterschiedliche Modelle konzeptuell und technisch miteinander zu kombinieren. In diesem Fall bestand die Problematik darin, Histogramm-Darstellungen der thalamischen Aktivität mit biophysikalisch detaillierten Neuronen-Modellen des primären visuellen Kortex und mit relativ abstrakten „Integrierte & Feuer“ (I&F)-Modellen der Schichten anderer visueller Areale zusammenzubringen.

Das Modell umfasste 15 Komponenten des visuellen Systems (Abb. 39). Die retinale Antwort auf einen Lichtblitz von 500 ms Dauer wurde durch Hintergrundaktivität von 50 Hz und zwei depolarisierende Strominjektionen nachgebildet, die das Modell eines Neuron des Corpus geniculatum laterale (CGL) nach Beginn und Ende des Stimulus phasisch aktivierten. Die Eigenschaften von Hintergrundaktivität und Strominjektion waren so gewählt, dass die Verteilung der Aktionspotenziale des thalamischen Neuronmodells mit den Histogrammen von Einzelzelleitungen im magnozellularen Teil des CGL übereinstimmten. Die Beschränkung auf den schnellen magnozellularen Strom wird durch unserer Interesse an den Latenzen bis zur ersten Aktivität gerechtfertigt.

Der primäre visuelle Kortex (V1) wurde durch ein „kanonisches Mikroschaltkreis“-Modell repräsentiert, das Douglas & Martin (1991) als elementaren Baustein kortikaler Schaltkreise etabliert hatten. Dieses Modell bestand aus drei miteinander verschalteten multi-kompartimentellen Neuronmodellen. Jedes Modell repräsentierte eine bestimmte Zellpopulation: Infragranuläre Pyramidenzellen (V1-L5P), inhibitorische Interneuronen (V1-L2S) und eine Kombination von supragranulären Pyramidenzellen mit dornentragenden Sternzellen der granulären Schicht IV (V1-L2P). Die Dimensionen der Kompartimente waren der Abbildung 14 der Arbeit von Douglas & Martin (1991) entnommen (siehe Tab. 5). Die Implementation aller Kompartimente geschah in Form der Differenzialgleichung äquivalenter elektrischer Schaltkreise mit dem Simulationsprogramm GENESIS (Wilson & Bower, 1989):

$$C_m \frac{dV_m}{dt} = \frac{(E_{rest} - V_m)}{R_m} + \sum_k I_k + I_{inject}$$

mit der Membrankapazität  $C_m$ , dem Ruhemembranpotenzial  $E_{rest}$ , dem aktuellen Membranpotenzial  $V_m$ , dem Membranwiderstand  $R_m$ , den Ionenströmen  $I_k$  und eventueller Strominjektion  $I_{inject}$ .

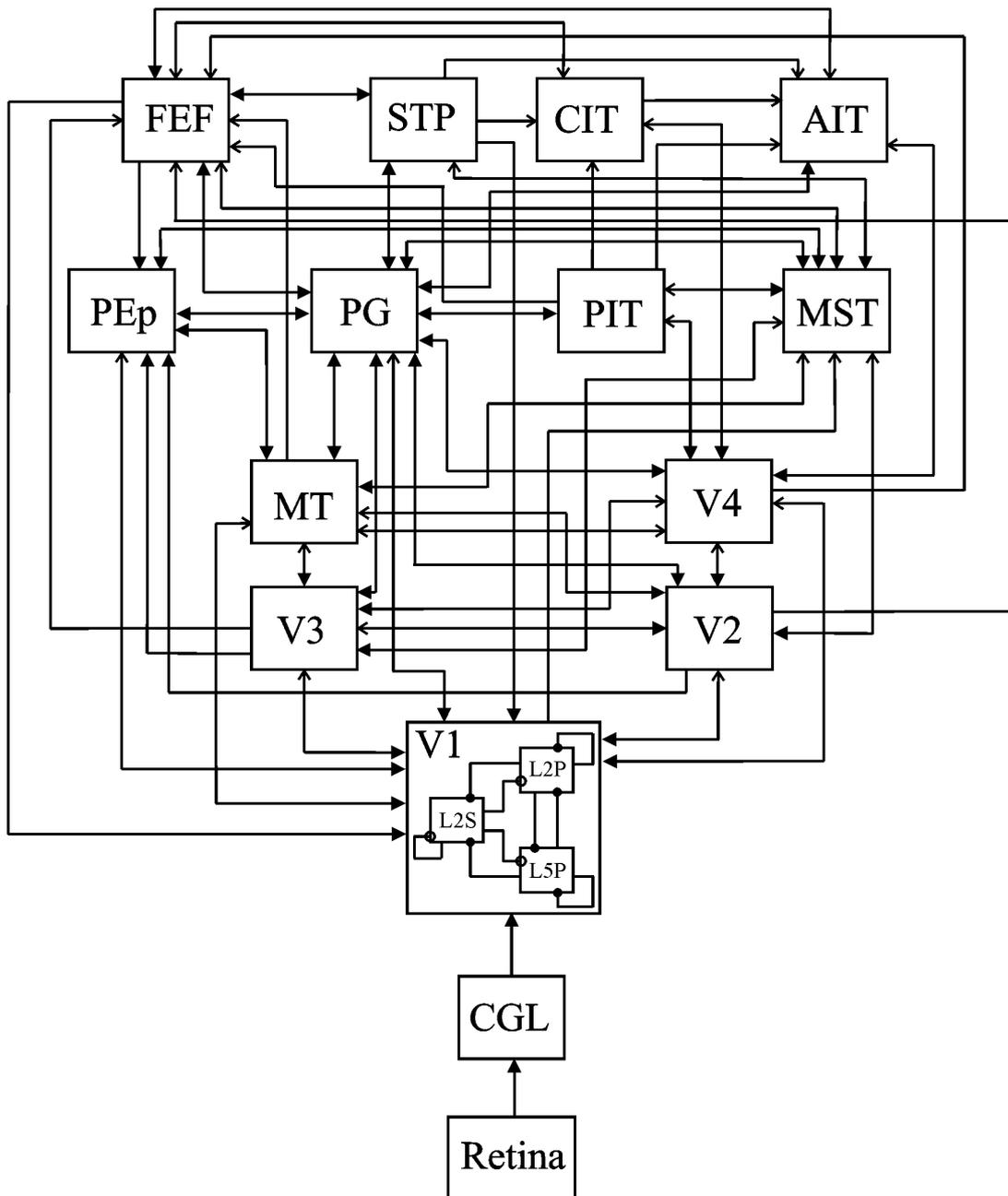


Abb. 39. Schematische Darstellung des simulierten visuellen Netzwerks. Aktivität breitet sich von der Retina über das thalamische Corpus geniculatum laterale (CGL) zum primären visuellen Kortex (V1) aus. Der letztere wurde durch einen Mikroschaltkreis nachgebildet, der aus drei miteinander verbundenen Neuronenpopulationen bestand (siehe Kasten). Gefüllte Kreise deuten exzitatorische Synapsen an, offene Kreise stehen für inhibitorische Synapsen. Die anderen visuellen Areale sind durch Quadrate dargestellt und durch exzitatorische Projektionen miteinander verbunden. Das laminäre Projektionsmuster ist durch → für die Terminierung in der granulären Schicht IV (Vorwärts- und laterale Projektionen) markiert. V2, V3, V4 = visuelle Areale 2, 3 bzw. 4; MT = mittleres temporales Areal (= V5); MST = mittleres superiores temporales Areal; STP = superiores temporales polysensorisches Areal; PEP = kaudaler und medialer Teil des Lobulus parietalis superior; PG = kaudaler Teil des Lobulus parietalis inferior; AIT, CIT, PIT = anteriores, zentrales bzw. posteriores inferotemporales Areal; FEF = frontales Augenfeld.

Tab. 5. Dimensionen der Kompartimente der Zellen des Mikroschaltkreis-Modells. Alle Angaben nach Douglas & Martin (1991) in  $\mu\text{m}$ .

Kompartiment	Dimension	V1-L5P	V1-L2P	V1-L2S
Soma	Durchmesser	27,3	18,2	25,0
	Länge	27,3	18,2	25,0
Proximaler Dendrit	Durchmesser	52,3	15,9	13,6
	Länge	183,3	144,4	144,4
Mittlerer Dendrit	Durchmesser	25,0	4,5	-
	Länge	127,8	100,0	-
Distaler Dendrit	Durchmesser	4,6	1,8	4,5
	Länge	1133,2	100,0	150,0

Die Parameter der passiven Zelleigenschaften waren: axialer Widerstand ( $r_a = 2,0 \Omega \cdot \text{m}$ ), spezifischer Membranwiderstand ( $r_m = 1,0 \Omega \cdot \text{m}^2$ ), spezifische Membrankapazität ( $c_m = 0,01\text{-}0,02 \text{ F} \cdot \text{m}^{-2}$ ), Ruhemembranpotenzial ( $E_{\text{rest}} = -0,05 \text{ V}$ ). Hinzu kamen die beschriebenen aktiven spannungsabhängigen und synaptischen Leitfähigkeiten (Douglas & Martin, 1991; Suarez et al., 1995). Da diese denen von Traub et al. (1991) ähnlich waren, konnten wir auf die Implementationen dieser Kanäle in GENESIS zurückgreifen. Die Pyramidenzellen besaßen eine schnelle Natrium-Leitfähigkeit (NaF), eine verzögert rektifizierende Kalium-Leitfähigkeit (KDR), eine transiente Kalium-Leitfähigkeit (KA), eine Kalzium-abhängige Kalium-Leitfähigkeit (KAHP) und eine hochschwellige Kalzium-Leitfähigkeit (Ca). Um den Effekt des Kalziumeinstroms durch Ca auf KAHP darzustellen, wurden Kalziumkonzentrationen innerhalb eines submembranösen Kompartiments von  $0,2 \mu\text{m}$  Dicke im Soma simuliert und für die Steuerung von KAHP verwendet. Die inhibitorischen Neuron-Modelle enthielten nur die NaF- und KDR-Leitfähigkeiten. Die Membranverteilung der Leitfähigkeiten ist in Tab. 6 angegeben.

Die drei Zellen des Mikroschaltkreis-Modells wurden entsprechend dem Schema für V1 in Abb. 39 verschaltet.

Tab. 6. Dichte der spannungsabhängigen und synaptischen Leitfähigkeiten in  $S \cdot m^{-2}$  für die Zellen des Mikroschaltkreis-Modells nach Douglas & Martin (1991) und Bush & Douglas (1991).

<b>Leitfähigkeit</b>	<b>V1-L5P</b>	<b>V1-L2P</b>	<b>V1-L2S</b>
NaF (Soma)	4000	4000	7000
KDR (Soma)	800	800	4000
KA (Soma)	20	20	-
KAHP (Soma)	150	150	-
Ca (Soma)	5	5	-
GABA <sub>A</sub> (Soma)	10	5	5
GABA <sub>A</sub> (prox. Dend.)	10	5	5
GABA <sub>B</sub> (prox. Dend.)	5	5	5
AMPA (prox. Dend.)	80	80	80
ex_syn (prox. Dend.)	5	10	10

Da jedes Zellmodell effektiv eine Population von Zellen darstellte, wurden die Interaktionen innerhalb der jeweiligen Population durch Rückverbindungen jedes Modells mit sich selbst modelliert. Dieses Vorgehen vernachlässigt die Heterogenität innerhalb der Neuronenpopulationen, kann aber leicht erweitert werden, um zusätzliche Merkmale abzubilden (Suarez et al., 1995). Inhibitorische synaptische Eingänge, die von den V1-L2S-Zellen ausgingen, wurden durch Synapsenmodelle für GABA<sub>A</sub> (Soma und proximale Dendriten) und GABA<sub>B</sub> (proximale Dendriten) in allen Zellen dargestellt, während die exzitatorischen Eingänge von V1-L2P und V1-L5P durch Synapsenmodelle für Glutamatrezeptoren des AMPA-Typ auf dem proximalen Dendriten beschrieben wurden. Die effektive Leitfähigkeit errechnete sich als das Produkt der zeitabhängigen Leitfähigkeit mit dem synaptischen Gewicht (Übertragungsstärke). Die synaptischen Gewichte hatten einen Wert von 1, wenn sie von V1-L2S ausgingen, andernfalls von 0,5, unabhängig von der Zielpopulation. Die synaptischen Eingänge von Quellen außerhalb der Area V1 (CGL und andere visuelle Areale des Netzwerkmodells) wurden durch exzitatorische Synapsenmodelle (ex\_syn) auf den proximalen Dendriten repräsentiert und so skaliert, dass ihr Gesamtgewicht 1

betrug. Alle synaptischen Leitfähigkeiten wurden durch doppelt-exponentielle Funktionen modelliert (Wilson & Bower, 1989). Die Umkehrpotenziale und Zeitkonstanten sind in Tab. 7 angegeben.

Tab. 7. Synaptische Parameter des Mikroschaltkreis-Modells nach Douglas & Martin (1991) und Suarez et al. (1995)

<b>Synaptische Leitfähigkeit</b>	<b><math>E_{rev}</math> (V)</b>	<b><math>\tau_1</math> (ms)</b>	<b><math>\tau_2</math> (ms)</b>
GABA <sub>A</sub>	-0.06	10.0	10.0
GABA <sub>B</sub>	-0.08	80.0	40.0
AMPA	0.0	4.5	1.8
ex_syn	0.0	4.5	1.8

Bei Überschreiten der Schwelle von 0 mV durch das Membranpotenzial im Soma löste der Aktionspotenzial-Generator die Aktivierung der postsynaptischen Neurone mit der entsprechenden Verzögerung aus. Die Verzögerung betrug 2 ms für alle Verbindungen zwischen den Zellpopulationen von V1 wie in der ursprünglichen Publikation (Bush & Douglas, 1991).

Weitere visuelle Areale wurden durch drei I&F-Modelle repräsentiert, die supragranuläre, granuläre und infragranuläre Schichten darstellten. Im Unterschied zu der Karte von Felleman & Van Essen (1991) wurde nicht zwischen den dorsalen und ventralen Anteilen der inferotemporalen visuellen Areale unterschieden. Zusätzlich wurden zwei periphere visuelle Areale des Parietalkortex (PG und PEp) als jeweils ein I&F-Modell implementiert.

Jedes I&F-Modell bestand aus einem passiven Kompartiment-Modell der Dimension 1 mit einem Ruhemembranpotenzial ( $E_{rest}$ ) von 0 V, einer Membrankapazität ( $C_m$ ) von 0.5 nF und einem Membranwiderstand ( $R_m$ ) von 40 M $\Omega$ . Im Gegensatz zu dem Mikroschaltkreis-Modell wurden Aktionspotenziale im I&F-Modell nicht explizit modelliert. Ein Aktionspotenzialgenerator mit einer Schwelle von 0,5 V und einer absoluten Refraktärzeit von 3 ms übernahm diese Rolle. Die Interaktionen zwischen den I&F-Modellen waren exzitatorisch mit Parametern, welche die schnelle AMPA-Aktivierung nachbildeten ( $E_{rev} = 1$  V,  $g_{max} = 0,8$   $\mu$ S;  $\tau_1 = 2,3$  ms;  $\tau_2 = 0,1$  ms). Ein inhibitorisches Synapsenmodell implementierte die Selbstinhibition eines Kortexabschnitts und benutzte die Parameter des GABA<sub>B</sub>-Synapsenmodells des

Mikroschaltkreises ( $E_{rev} = 0$  V;  $g_{max} = 1,0 \mu\text{S}$ ;  $\tau_1 = 40$  ms;  $\tau_2 = 80$  ms; Verzögerung = 0 s; Gewicht = 1). Hierdurch wurde das Membranpotenzial des I&F-Modells nach überschwelliger Aktivierung auf einen niedrigen Wert zurückgeführt.

Die Verbindungen innerhalb dieses Netzwerk-Modells des visuellen Kortex rührten aus mehreren Quellen her. Die Verbindungen zwischen den dreiteiligen Arealmodellen folgten dem Schema von Callaway (1998): jede Modellschicht projizierte zu den anderen beiden Modellschichten. Inter-Area-Projektionen entsprachen den Angaben von Felleman & Van Essen (1991), wie in der CoCoMac-Datenbank repräsentiert. Die Gesamt-Eingangsstärke war auf 1 skaliert mit gleichen Beiträgen aller intrinsischen und extrinsischen Eingänge. Die Verzögerungen zwischen den Schichten und Arealen besaßen denselben festen Wert von 15 ms, was in etwa die experimentellen Daten repräsentiert (Nowak & Bullier, 1997; siehe aber Maunsell & Gibson, 1992).

Der Simulationszeitschritt für die numerische Integration mittels des exponentiellen Euler-Algorithmus betrug  $10 \mu\text{s}$  bei einer gesamten simulierten Zeit von 1,5 s. Diese Zeit zerfiel in 0,5 s vor Beginn des visuellen Stimulus zur Entfernung von Artefakten durch die Initialisierung von Objekten und Parametern (in den Abbildungen nicht gezeigt); der visuelle Stimulus begann zum Zeitpunkt  $t = 0$  und dauerte 0,5 s wie in den Experimenten von Schmolesky et al. (1998).

#### 4.2.2 Ergebnisse

Das simulierte Netzwerk zeigte eine Stimulus-abhängige Aktivitätsausbreitung vom CGL über V1 zu allen anderen Arealen. Histogramme der zeitlichen Verteilung der Aktionspotenziale (Abb. 40) bestätigten, dass das Aktivitätsmuster des CGL-Modells mit den Einzelzelleitungen des magnozellularen Teil des CGL übereinstimmte. Anschließend reagierten alle Zellen des Mikroschaltkreis-Modells von V1 mit Aktivität, die Merkmale sowohl des magno- als auch des parvozellulären Stroms aufwies (siehe Abb. 1 C+D in Schmolesky et al. 1998). Die übrigen Elemente des Netzwerks zeigten beträchtliche Variation in den Latenzen und Verteilungen der Aktionspotenzial-Antworten. Die Maxima in den Histogrammen der Schicht IV-Antworten lagen vor denen in den supra- und infragranulären Schichten mit Ausnahme der inferotemporalen Areale und des frontalen Augenfeldes (FEF), wo sie nahezu simultan auftraten. Strukturen mit direktem Input aus V1 wiesen deutliche Aktivität bereits vor den Maxima auf, die durch Aktivität im Mikroschaltkreis hervorgerufen wurde, die nicht streng an den Stimulus gekoppelt war.

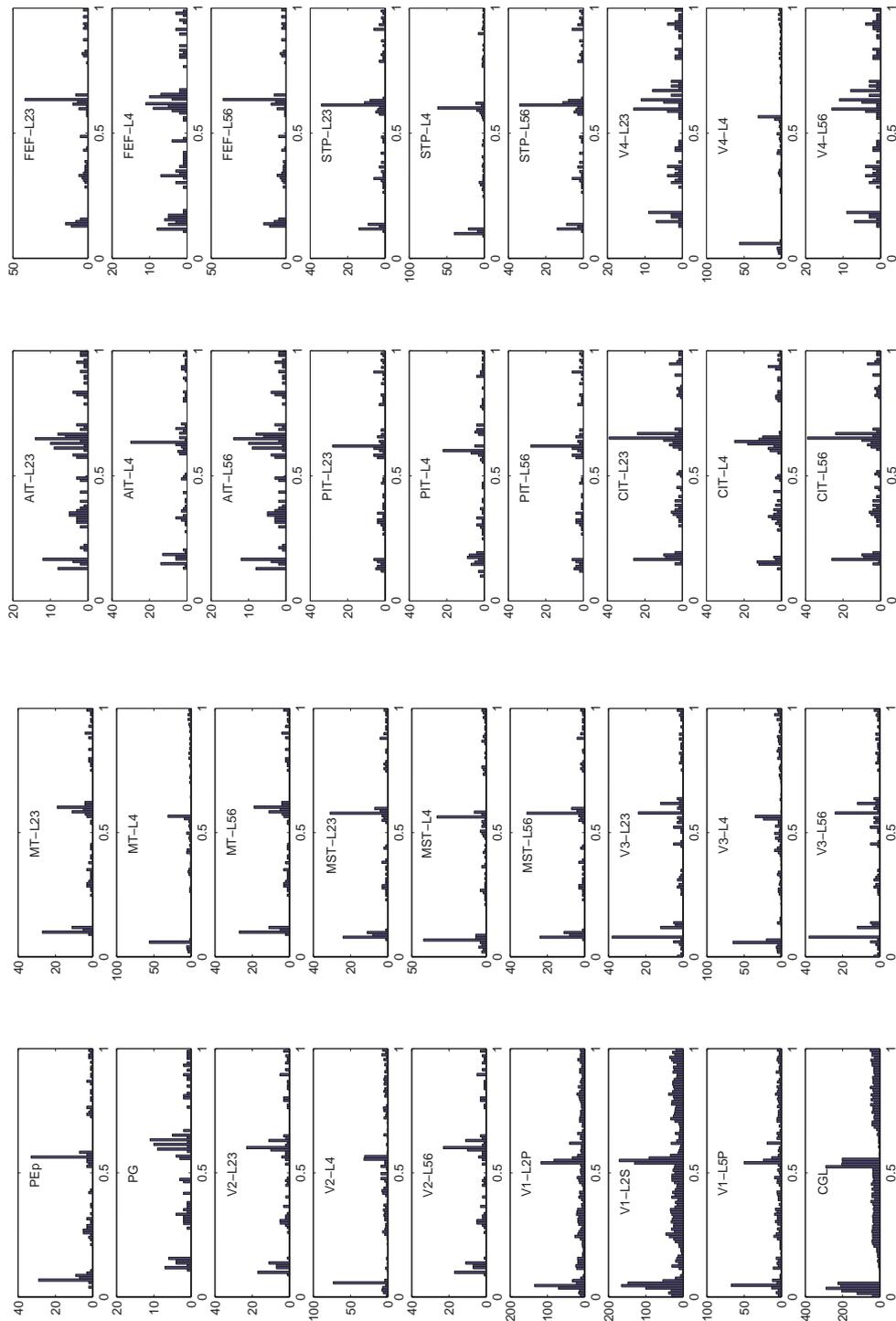


Abb. 40. Histogramme der zeitlichen Verteilung simulierter Aktionspotenziale im CGL und allen Komponenten der 13 visuellen kortikalen Areale auf visuelle Stimulation im Zeitraum von 0-500 ms. Die Abkürzungen L23, L4, L56 bezeichnen die supragranulären, granulären bzw. infragranulären Komponenten. Die Antworten wurden über Zeitbereiche mit einer Breite von 10 ms für 100 randomisierte Simulationen aufsummiert. Die Verteilung im CGL war entsprechend der Abb. 1 in Schmolesky et al. (1998) optimiert.

Die detailliertere Betrachtung der Simulation eines einzelnen Stimulationsdurchgangs zeigte realistische Membranpotenzial-Fluktuationen in den Zellen des Mikroschaltkreises von V1. Unregelmäßig auftretende exzitatorische postsynaptische Potenziale summierten sich gelegentlich und lösten Aktionspotenziale aus (Abb. 41). Die Induktion langsamer inhibitorischer Potenziale durch GABA<sub>B</sub>-Synapsen resultierte in Phasen der Hyperpolarisation. Das Modell der inhibitorischen Neuronenpopulation (V1-L2S) repolarisierte typischerweise sehr schnell und besaß eine hohe Aktivitätsrate. Supra- und infragranuläre Zellpopulationen (V1-L2P bzw. V1-L5P) zeigten breitere Depolarisationen mit abnehmenden Fluktuationen, die zu salvenartiger Aktivität in der ersteren und einzelnen Aktionspotenzialen in der letzteren führten. Der Unterschied im Verhalten dieser zwei Zelltypen wurde erklärt durch die kleineren Dimensionen und den höheren Eingangswiderstand, als auch die geringere GABA<sub>A</sub>-Leitfähigkeit in dem Modell der (supra-)granulären Schicht. Diese Merkmale passen zu den Beobachtungen von Douglas & Martin (1991) in Reaktion auf die Stimulation thalamokortikaler Afferenzen. Die I&F-Modelle visueller Areale zeigten simplere Membranpotenzial-Fluktuationen, die weniger und breiter waren und keine Aktionspotenziale hervorriefen, wie es die eingebauten Membraneigenschaften erwarten ließen. Nicht jedes dieser Modelle reagierte auf den visuellen Stimulus während seiner Dauer von 0,5 s.

Die Computersimulation erlaubt auch die Inspektion von Variablen, die experimentell nicht zugleich zugänglich wären. Die Abb. 42 stellt Aktionspotenziale, exzitatorische und inhibitorische synaptische Ströme und Leitfähigkeiten aus demselben Simulationsdurchgang aus dem Modell der Schicht IV von V2 (V2-L4) gegenüber. Obwohl nur vereinzelte Paare von Aktionspotenzialen auftraten, führte die Selbstinhibition zu großen inhibitorischen Strömen, wenn das Modell anschließend depolarisiert wurde. In diesem Fall löschte das zweite Aktionspotenzialpaar eine Antwort in V2-L4 auf das Stimulusende aus. Diese Darstellung gibt einen Eindruck vom differenziellen Auftreten und dem Zeitverlauf somatischer Aktionspotenziale und exzitatorischer sowie inhibitorischer Ereignisse.

Als einen groben Marker für die Aktivitätsausbreitung in diesem visuellen Netzwerk wurden die Latenzen vom Beginn des Stimulus bis zum ersten darauf folgenden Aktionspotenzial in jedem I&F-Modell bestimmt. Die Sequenz der Latenzen (Abb. 43) zeigte ein generelles Vorwärts-Aktivierungsmuster, d.h. dass die Schicht IV vor den supra- und infragranulären Schichten aktiviert wurde. Die Mediane der Latenzen legten eine Einteilung in vier Gruppen nahe: 1) CGL und V1; 2) die granulären Schichten von V2, V3, V4, MT und MST, d.h. die direkt von V1 aktivierten Modelle; 3) PEP, STP und extragranuläre Schichten der Areale der zweiten Gruppe mit Ausnahme von V4; 4) inferotemporale Areale, PG und die extragranulären Schichten von V4. Besonders eindrucksvoll war die Gleichzeitigkeit der Aktivierung aller Schichten der inferotemporalen Areale und die erhebliche Differenz in Areal V4 zwischen der Aktivierung der granulären und der extragranulären Schichten.

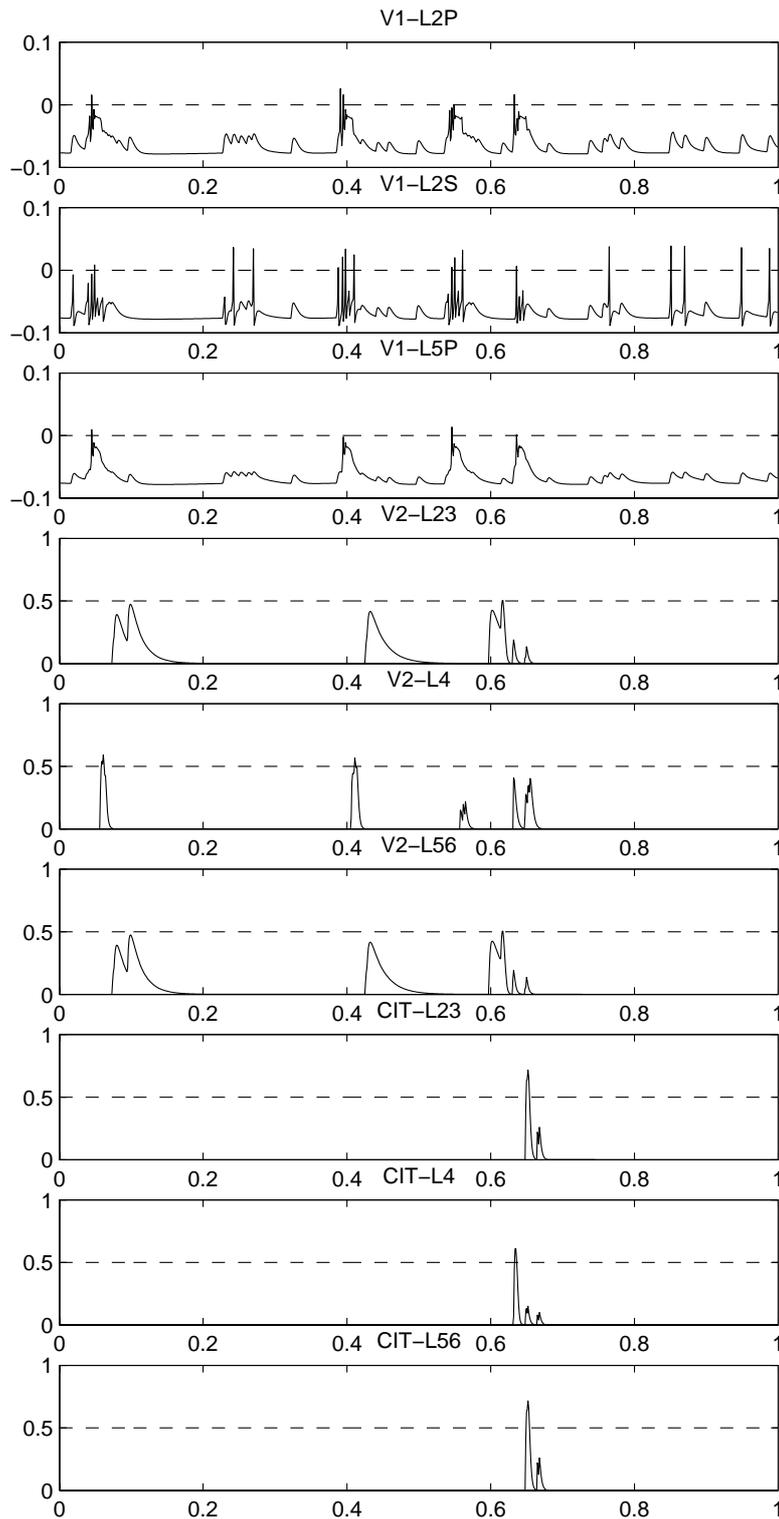


Abb. 41. Beispiele simulierter Membranpotenzial-Verläufe für die drei Zellen des V1-Mikroschaltkreises und für die I&F-Modelle der supragranulären, granulären und infragranulären Schichten in V2 und CIT bei visueller Stimulation im Zeitraum 0-500 ms. Die Abszisse zeigt die Zeit in ms, die Ordinate das Membranpotenzial in Volt. Die unterbrochenen horizontalen Linien markieren die Schwelle für die Auslösung eines Aktionspotenzials. Die Komponenten von V1 zeigen realistische Membranpotenziale, während das Membranpotenzial der I&F-Modelle auf den Bereich 0-1 V skaliert ist.

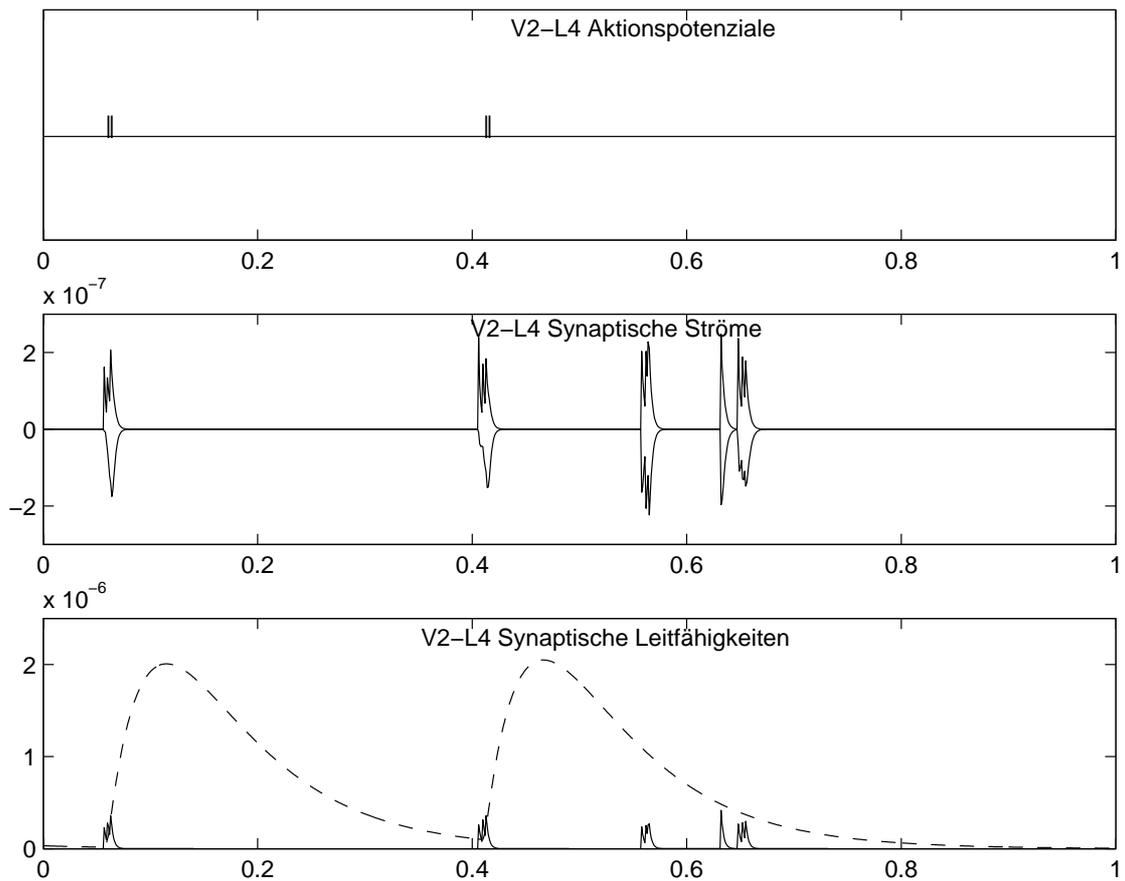


Abb. 42. Beispiel simulierter Aktionspotenziale, synaptischer Ströme und Leitfähigkeiten in dem I&F-Modell der granulären Schicht von V2 in Reaktion auf visuelle Stimulation 0-500 ms. Die Abszisse zeigt die Zeit in ms, die Einheiten der Ordinaten sind Ampère für Ströme und Siemens für Leitfähigkeiten. Exzitatorische und selbstinhibitorische Ströme sind als positive bzw. negative Werte dargestellt. Exzitatorische und selbstinhibitorische Leitfähigkeiten sind durch durchgezogene bzw. unterbrochene Linien markiert.

Die Absolutwerte der Latenzen variierten naturgemäß mit den Überleitungszeiten zwischen den Schichten und Arealen. Die Sequenz der Areal-Aktivierung war hingegen relativ unabhängig von den Überleitungszeiten. Interessant war die Beeinflussung der Sequenz der Schichten-Aktivierung innerhalb eines Areals durch die Überleitungszeiten. Zur formalen Betrachtung dieses Zusammenhangs wurde ein „hierarchischer Aktivierungs-Index“ (HAI) definiert:

$$HAI = \frac{lat(\hat{L}4)}{lat(\hat{L}4) + lat(L4)} .$$

Hierbei ist  $lat(L4)$  die mittlere Latenz des ersten Aktionspotenzials in Schicht IV und  $lat(\hat{L}4)$  die mittlere Latenz in den supra- und infragranulären Schichten.

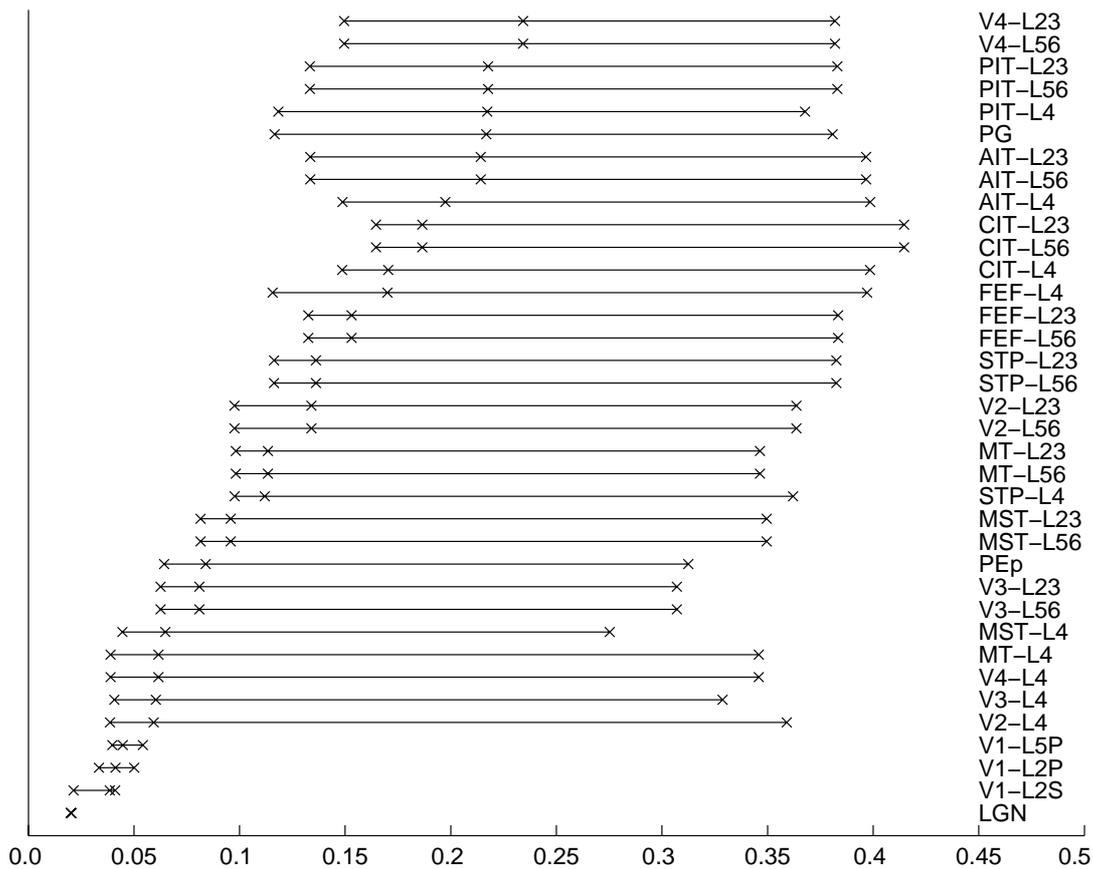


Abb. 43. Verteilung der Antwortzeiten über die Areale des visuellen Netzwerks in 100 Simulationen mit zufälliger Verteilung der Hintergrundaktivität im CGL. Die Abszisse zeigt die Zeit in Sekunden; die Kreuze markieren die 10., 50. und 90. Perzentile. Die Überleitungszeiten betragen einheitlich 15 ms zwischen den Schichten und Arealen.

Ein HAI-Wert  $>0,5$  bedeutet, dass die granuläre Schicht vor den extragranulären Schichten Aktivität zeigt, was einem Vorwärts-Aktivierungsmuster entspricht. Umgekehrt würde ein Rückwärts-Aktivierungsmuster mit längerer Latenz in der granulären Schicht als in den extragranulären Schichten einen HAI-Wert  $<0,5$  ergeben. Die Abb. 44 zeigt, dass eine Überleitungszeit von 15 ms beinahe ausschließlich zu Vorwärts-Aktivierungsmustern führte. Dies war besonders in den Arealen V4, MST und MT der Fall, während FEF und die inferotemporalen Areale AIT und PIT beinahe simultan in allen Schichten Aktivität zeigten. Durch Variation der Überleitungszeiten kam es zu bemerkenswerten Veränderungen der laminären Aktivierungssequenzen: kürzere Überleitungszeiten verringerten die Vorwärts-Aktivierungsmuster und kehrten sie um in V4. Das Gegenteil war der Fall in FEF. Während einige Areale (V2, V3, MT) komplizierte Änderungen der laminären Aktivierungssequenz zeigten, wurde die simultane Aktivierung der inferotemporalen Areale kaum durch die veränderten Überleitungszeiten beeinflusst.

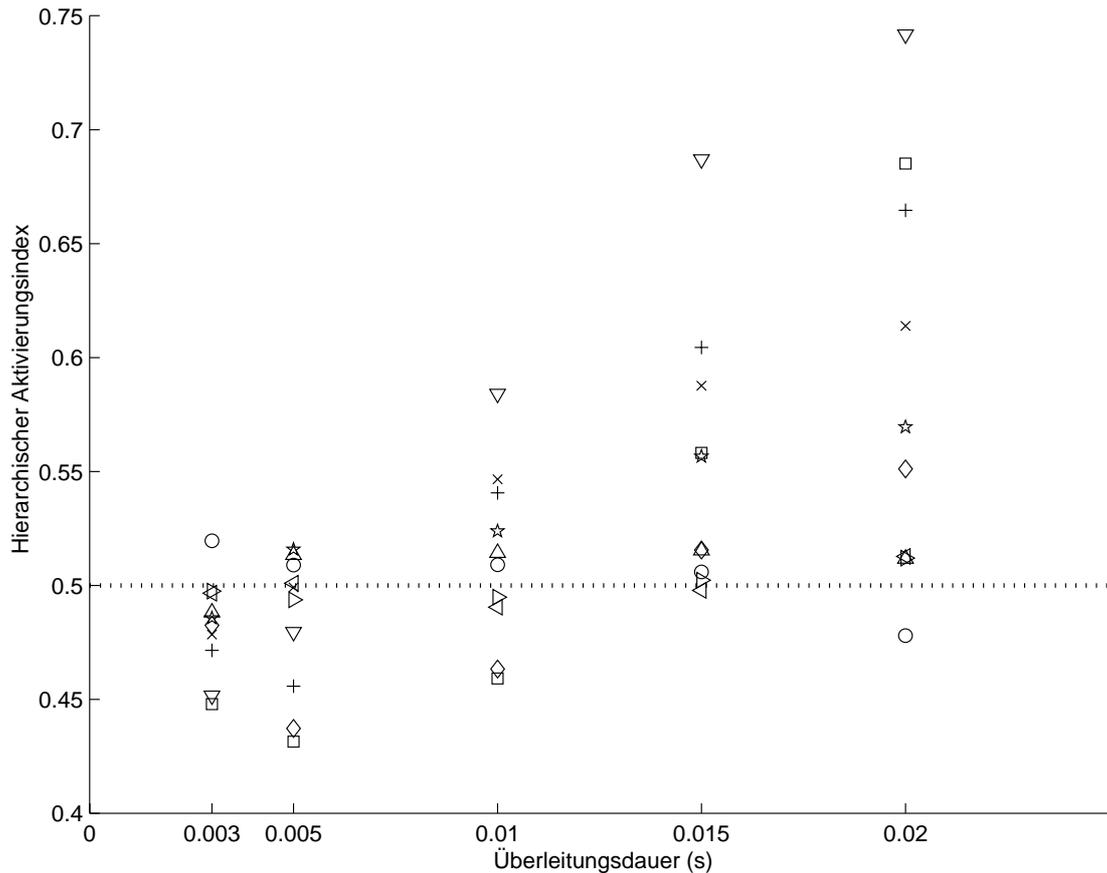


Abb. 44. Verteilung der hierarchischen Aktivierungsindizes (HAI) für die 10 dreischichtigen Arealmodelle. Ein Indexwert  $>0.5$  gibt an, dass die granuläre Schicht des Modells im Durchschnitt früher als seine extragranulären Schichten Aktionspotenziale zeigte. Die Indexwerte für eine Überleitungsdauer von 15 ms entsprechen den Histogrammen aus Abb. 40 und den Latenzen in Abb. 43, wo allerdings der Median statt des Mittelwertes aufgetragen wurde. Die Veränderung der Überleitungsdauer hatte unterschiedliche Auswirkungen, die besonders deutlich an V4, FEF und den inferotemporalen Arealen ablesbar sind.  $\square = V2$ ;  $\diamond = V3$ ;  $+$  = MT;  $\times = MST$ ;  $\star = STP$ ;  $\nabla = V4$ ;  $\triangleleft = AIT$ ;  $\triangleright = PIT$ ;  $\triangle = CIT$ ;  $\circ = FEF$ .

#### 4.2.3 Diskussion

Das hier beschriebene Modell integriert verschiedene Arten von Modellen für das Verhalten von Zellen, Schichten und Arealen in Form eines funktionierenden Netzwerkmodells des visuellen Systems für die Untersuchung der Muster der Aktivitätsausbreitung nach visueller Stimulation. Das vielfältige Repertoire der erhaltenen Antworten liefert sowohl interessante Einsichten als auch weitere Hypothesen.

Die Mikroschaltkreis-Implementation von Douglas & Martin (1991) war ursprünglich entwickelt worden, um die erste Antwort von Zellen im primär visuellen Kortex der Katze auf afferente Stimulation zu untersuchen. In den vorliegenden umfangreicheren Simulationen zeigen diese Zellen Potenzialverläufe, die den wesentlichen

Eigenschaften inhibitorischer und exzitatorischer Neurone im Kortex entsprechen. Diese Implementation ist allerdings nicht detailliert genug, um die Vielzahl der bekannten kortikalen Zelltypen (z.B. regelmäßig vs. salvenartig aktivierte Neurone) oder die Mikroerschaltungen von V1 bei Primaten widerzugeben. Tatsächlich ist das Konzept des kanonischen Mikroschaltkreises ein abstraktes elementares Schema, das für den jeweiligen Zweck spezifisch adaptiert und implementiert werden muss. Diese Sichtweise wird bestätigt durch die verschiedenen Versionen des „kanonischen Mikroschaltkreises“ und deren lückenhafte Beschreibung in der publizierten Literatur (Bush & Douglas, 1991; Douglas & Martin, 1991; Douglas & Martin, 1992; Suarez et al., 1995). Diese Mikroschaltkreis-Implementation kann als ein Modul in ein Netzwerkmodell eingebaut werden und ist hilfreich bei der Untersuchung der Latenzen im primär visuellen Kortex.

Die visuellen kortikalen Areale wurden typischerweise in der Abfolge aktiviert, die ungefähr der Anzahl der Stationen ausgehend vom CGL entspricht (siehe Petroni et al., 2001). Die Anzahl der Stationen, die ein Signal passieren muss, um ein bestimmtes Areal zu erreichen, wurde als die Hodologie des Systems bezeichnet (Young et al., 1994a). Die Hodologie erklärt die nahezu gleichzeitige Aktivierung der Areale V2, V3, MT und MST wie bei Petroni et al. (2001) und in Abb. 43. Im Gegensatz zu der Arbeit von Petroni et al., die jedes Areal durch sechs Schichten und jede Schicht durch 100 exzitatorische und 100 inhibitorische I&F-Zellen repräsentiert, wird die Abfolge der Aktivierung hier jedoch mit einem erheblich einfacheren Modell erreicht. Die experimentelle Beobachtung einer ähnlichen Latenz für FEF und einer längeren Latenz für V4 benötigt jedoch in beiden Modellen zusätzliche Annahmen. In diesem Zusammenhang ist es bemerkenswert, dass sowohl die größere Latenz von V4, als auch die geringeren Unterschiede zwischen den Arealen V3, MST und V2 (Schmolesky et al., 1998; Schroeder et al., 1998) in dem vorliegenden Modell recht gut durch die extragranulären Schichten abgebildet werden (Abb. 43). Daraus ergibt sich die Frage, inwieweit die laminäre Verteilung der Messstellen Einfluss auf die experimentellen Beobachtungen hat. Einige Informationen über die laminären Unterschiede der Latenzen haben systematische Messungen über alle Schichten visueller kortikaler Areale geliefert (Maunsell & Gibson, 1992; Mehta & Schroeder, 2000; Mehta et al., 2000; Schroeder et al., 1998).

Obwohl hier nur ein einziger (magnozellularer) thalamischer Eingang benutzt wurde, zeigte das Modell adäquate Latenzen sowohl in Arealen, die dem magnozellularen Strom zugeordnet werden, als auch in solchen, die dem parvozellulären Strom entsprechen. Dieser Befund deutet darauf hin, dass die Verteilung der Latenzwerte nicht einfach eine Folge des sequenziellen Eintreffens separater thalamokortikaler Eingänge ist, sondern dass die Latenzwerte wesentlich durch die Netzwerkstruktur mit spezifischen divergierenden und konvergierenden Bahnen geprägt werden.

Der visuelle Kortex ist hierarchisch organisiert (Felleman & Van Essen, 1991); dennoch ist seine genaue hierarchische Struktur unbestimmt (Hilgetag et al., 1996). Die hier vorgelegten Simulationen zeigen, dass die anatomische Unbestimmtheit ein funktionelles Gegenstück besitzt. Es fanden sich trotz der gleichen Anzahl von Verarbeitungsschritten nicht nur erhebliche Unterschiede in den Latenzen zwischen den granulären und extragranulären Schichten der Areale V2, V3 und V4, sondern die laminäre Abfolge der Areal-Aktivierung wechselte zwischen einer Vorwärts- und einer Rückwärtscharakteristik in Abhängigkeit von der Dauer der Überleitungszeiten, die jeweils für alle Stationen als gleich angenommen wurden. Da jedes Areal über mehrere Wege mit unterschiedlichen laminären Verschaltungen aktiviert werden kann, lässt sich vorhersagen, dass die laminäre Abfolge der Aktivierung von mehreren Faktoren abhängt, wie z.B. laminäre Voraktivierung, funktionelle Wirkung der Projektionen und Stimuluseigenschaften (Helligkeit, Farbkontrast, Bewegung, Kohärenz etc.). Daher ist nicht nur die anatomische Hierarchie des visuellen Systems unbestimmt: auch seine funktionelle Hierarchie, hier definiert als die Abfolge der relativen Zeiten der Aktivierung granulärer und extragranulärer Schichten, hängt von der Feinstruktur der Aktivitätsausbreitung in dem Netzwerk ab.

Obwohl mehrere Studien Daten über die Latenzen der Aktivierung kortikaler Areale geliefert haben, müssen die relevanten Einflussfaktoren noch genauer charakterisiert werden. Es existieren zwei Vorgehensweisen, die beide notwendig sind, um eine umfassende Analyse durchzuführen: 1) die Verwendung verschiedener Stimuli, die für die Stimuluspräferenz (z.B. hinsichtlich Größe, Kontrast, Farbe, Bewegung) des jeweiligen Areals optimiert sind (wie bei Schmolesky et al., 1998), und 2) die Verwendung des exakt gleichen Stimulus für alle Areale trotz der Wahrscheinlichkeit, dass einige Areale keine deutlichen Antworten darauf zeigen (wie bei Schroeder et al., 1998). Weitere Experimente würden Einsichten darin ermöglichen, wie die Aktivierungssequenz und die funktionelle Hierarchie der Areale von den Stimuluseigenschaften abhängen. Darüber hinaus wären Vergleiche zwischen Feldpotenzialmessungen, Ableitungen von Einzelzellen und Zellpopulationen, sowie die Bestimmung von synaptischer und metabolischer Aktivität wichtig. Diese würden Auskunft geben über den Zusammenhang zwischen den verschiedenen Prozessen, über die funktionelle Organisation der visuellen Informationsverarbeitung und die zeitlichen Rahmenbedingungen für kognitive Verarbeitung visueller Informationen (siehe z.B. Thorpe et al., 1996).

Abschließend ist es wichtig, daran zu erinnern, dass Modelle – seien sie informell, biophysikalisch korrekt oder mathematisch effizient – immer Modelle für einen bestimmten Aspekt der biologischen Verhältnisse sind und niemals für jeden Aspekt der Wirklichkeit. Jedes Modell reduziert den größten Teil der Komplexität des Phänomens, das es darstellen soll. Obwohl dies eine fundamentale Einschränkung zu sein scheint, ist es doch gerade der Sinn eines Modells, nur diejenigen Aspekte darzustellen, die in einem bestimmten Kontext oder für eine bestimmte Fragestellung

relevant sind. Die Fokussierung auf die essenziellen Mechanismen (im Gegensatz zu einer undifferenzierten Vereinfachung) fördert das Verständnis des Phänomens und liefert eventuell mathematische Beschreibungen, die für weitere Vorhersagen nützlich sind. Ob das Modell auch in einem anderen Kontext Gültigkeit besitzt, bleibt davon unberührt und muss im Rückgriff auf die biologischen Daten untersucht werden. In einem Bereich komplexer Phänomene, wie sie die Neurowissenschaft untersucht, sind Modelle, die sich auf das Essenzielle fokussieren, unbedingt notwendig und stellen nicht nur erste Schritte auf dem Weg zu einer Gesamtheorie dar. Nichtsdestoweniger besteht eine Beziehung zwischen dem empirischen Phänomen, das es zu beschreiben gilt, und der Komplexität brauchbarer Modelle: zu simple Modelle versagen bei der Beschreibung des Phänomens; zu komplizierte Modelle sind dem Verständnis abträglich. Ein brauchbares Modell befindet sich zwischen den beiden Extremen und ist eingebettet in genügend empirische Daten für die Bestimmung seiner Parameter. Nach mehr als 100 Jahren quantitativer Neurowissenschaft und mit den modernen Techniken der Datenproduktion und –sammlung wird die Erstellung adäquater Modelle zunehmend wichtig.

## 5 Weiterführende Überlegungen

### 5.1 Informationsverarbeitung in kortikalen Arealen

In Abschnitt 2 wurden die Muster und die Geschwindigkeit der Aktivitätsausbreitung im somatosensorischen Kortex der Ratte beschrieben. Diese Aussagen beruhten auf vielfachen Vergleichen der durch Glutamatfreisetzung evozierten Feldpotenzial-Antworten innerhalb von kortikalen Kolumnen und Schichten als auch über diese hinweg. Obwohl dabei zunächst immer nur der Start- und der Endpunkt der Aktivitätsausbreitung bekannt sind, kann jedoch auch auf die Wege der Aktivitätsausbreitung rückgeschlossen werden.

Die Abb. 45 zeigt ein Beispiel für eine solche Analyse mit der Multi-Elektrode, die parallel zu den Schichten in das Gewebe eingebracht wurde und damit einen Bereich von vier „Barrel“-assoziierten Kolumnen überdeckt (A). Die dazu gehörenden funktionellen Karten (abgebildet sind Beispiele für die zweite und die vierte der fünf Elektroden) zeigen zunächst den bereits dargestellten Befund, dass die Stimulation der Schicht IV eine deutliche Feldpotenzial-Antwort in den supragranulären Schichten hervorruft (B und C). Gleichzeitig zeigen die Karten, dass Stimulation der supragranulären Orte, die eine deutliche Antwort auf die Stimulation der Schicht VI aufweisen, keine messbaren Antworten in den supragranulären Schichten der Nachbarkolumnen evozieren. Dieser Befund steht im Einklang mit der Beobachtung, dass innerhalb der supragranulären Schichten kaum eine Fortleitung zu finden ist. Nimmt man diese Befunde zusammen, so lässt sich daraus indirekt schließen, dass die vorhandene Aktivierung supragranulärer Messstellen aus den „Barrels“ in der Schicht IV der Nachbarkolumne nicht den Weg über die kolumnäre Fortleitung zu den supragranulären Schichten der Nachbarkolumne und von dort zur Zielkolumne nimmt. Aufgrund der Kontinuität der responsiven Felder in B und C liegt es dagegen nahe, dass die Ausbreitung zunächst innerhalb der Schicht IV erfolgt und von dort aus die weitere Aktivierung der Nachbarkolumne einschließlich der supragranulären Schichten bewirkt.

Dieser Weg wird allerdings durch die bekannten anatomischen Befunde nicht gestützt. Morphologische Rekonstruktionen intrazellulär markierter Neurone haben gezeigt, dass die Axone der dornentragenden Sternzellen der Schicht IV in die supragranulären Schichten vor allem der Ausgangskolumne führen und nur eine geringe Verzweigung in die Nachbarkolumnen aufweisen (Lübke et al., 2000). Daher wird ihre Funktion überwiegend in der Verstärkung thalamischer Eingänge und ihrer Übertragung vertikal innerhalb der Kolumne gesehen.

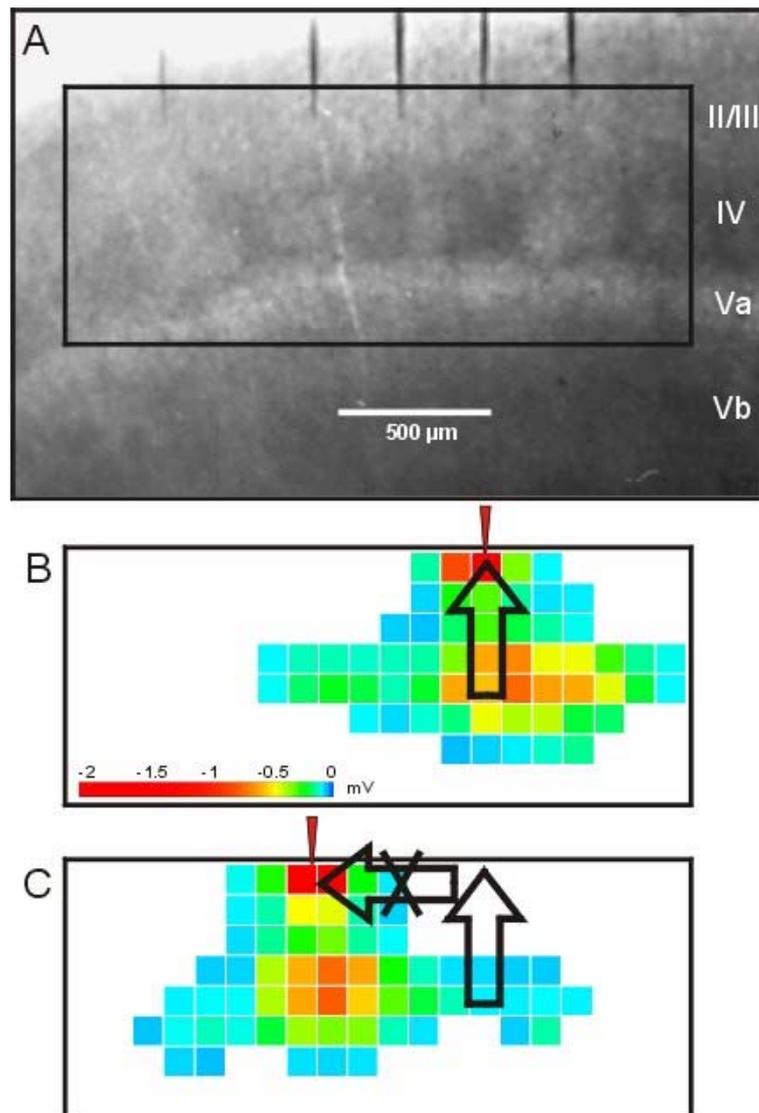


Abb. 45. Indirekte Rekonstruktion der Aktivitätsausbreitung im somatosensorischen Kortex der Ratte durch systematische Rasteranalyse mit Blitzfotolyse von verestertem Glutamat. A) Darstellung der supragranulären Positionierung der 5x-Multi-Elektrode über vier „Barrel“-assoziierte Kolonnen hinweg. B) und C) Topografische Karten der simultan aufgenommenen maximalen Feldpotenzial-Amplituden für die zweite und vierte Elektrode, die durch die rote Spitze markiert sind. Die offenen Pfeile zeigen, dass eine kolumnäre Aktivitätsausbreitung von granulär nach supragranulär erfolgt, dass aber die transkolumnäre Weiterleitung nicht supragranulär erfolgt.

Die hier vorliegenden funktionellen Befunde stehen damit durchaus im Einklang, liefern jedoch wesentliche Modifizierungen: Zum einen, reicht die vertikale Projektion in die supragranulären Schichten offenbar nicht aus, um von dort die benachbarten Kolonnen zu aktivieren, zum anderen leisten die wenigen transkolumnär verlaufenden Axone möglicherweise einen entscheidenden Beitrag zu der transkolumnären Aktivitätsausbreitung aus der Schicht IV heraus. Eine weitere Alternative wäre die Aktivitätsausbreitung über eine Kette von dornentragenden

Sternzellen innerhalb der Schicht IV, die auf polysynaptischem Weg zu der Aktivierung der Nachbarkolumne führt. Die weitere Untersuchung dieser Fragestellung wird beispielsweise die Kartierung monosynaptischer Eingänge durch intrazelluläre Messverfahren oder die Analyse der Aktivitätsausbreitung in Gehirnschnitten nach gezielter horizontaler oder vertikaler Inzision zur Isolation bestimmter Schichten und Kolumnenanteile umfassen.

Weitere für die Informationsverarbeitung in kortikalen Arealen relevante Daten sind insbesondere von der Rezeptor-Autoradiografie zu erwarten. Diese liefert Aufschluss über die Verteilung von spezifischen Bindungsstellen für Neurotransmitter-Liganden und damit über die Charakteristika der Informationsübertragung in neuronalem Gewebe. In der Zusammenschau mit morphologischen (z.B. zytoarchitektonischen) Merkmalen lässt sich eine Zuordnung von Schichtenbau, neuronaler Spezialisierung, Termination spezifischer Afferenzen und funktioneller Wirkung durchführen. Insgesamt können eine Vielzahl von strukturellen und funktionellen Parametern erhoben werden, die Einblicke in die Struktur-Funktionsbeziehungen kortikaler Areale ermöglichen (siehe z.B. Kötter et al., 2001).

## **5.2 Informationsverarbeitung in kortikalen Netzwerken**

Auf der Einzelzellebene wird unter statistischen Gesichtspunkten angenommen, dass Neurone (insbesondere Pyramidenzellen) etwa gleich viele afferente wie efferente Synapsen bilden (siehe z.B. Braitenberg & Schüz, 1989). Der exakte morphologische Beweis dieser Vermutung wäre nur unter extremem Zeitaufwand zu führen. Auf der gröberen Ebene kortikaler Areale, hingegen, sollte das vorhandene Datenmaterial genaue Angaben über das Verhältnis der Afferenzen zu den Efferenzen für verschiedene Areale ermöglichen. Diese Betrachtungsweise erhält eine besondere Bedeutung vor dem Hintergrund der Überlegung, dass sich die Spezialisierung und Funktion kortikaler Areale nicht nur in ihrem inneren Aufbau, sondern auch in besonderen Verbindungsmustern widerspiegeln könnte. Funktionell relevante Merkmale der Verbindungsmuster sind etwa die Dichte der Verbindungen, das Verhältnis von Afferenzen zu Efferenzen und das Vorliegen unidirektionaler oder reziproker Verbindungen. Für jedes Areal  $A_i$  lässt sich die Anzahl  $o$  der Efferenzen  $A_i A_j$  mit  $A_i \neq A_j$  und entsprechend die Anzahl  $p$  der Afferenzen ermitteln. Hierzu werden zunächst zwei Funktionen  $f_i(j)$  und  $g_i(k)$  definiert, welche die Existenz einer Verbindung zwischen zwei Arealen  $A_i$  und  $A_j$  betreffen:

$$f_i(j) = \begin{cases} 1, & \text{falls } (A_i A_j) \text{ und} \\ 0, & \text{sonst} \end{cases}$$

$$g_i(k) = \begin{cases} 1, & \text{falls } (A_k A_i) \\ 0, & \text{sonst} \end{cases}$$

Diese Funktionen werden für die Berechnung des Input/Output-Index verwendet:

$$IO_{A_i} = \frac{\sum_{j=1}^o f_i(j)}{\sum_{j=1}^o f_i(j) + \sum_{k=1}^p g_i(k)}.$$

Der Input/Output-Index  $IO_{A_i}$  gibt also für jedes Areal  $A_i$  an, ob ein Übergewicht der Afferenzen ( $IO < 0,5$ ) oder der Efferenzen ( $IO > 0,5$ ) oder eine Balance von Afferenzen und Efferenzen ( $IO = 0,5$ ) besteht.

Des weiteren wird die Symmetrie der paarweisen Projektionen untersucht. Wir definieren wieder für jedes Areal  $A_i$  die Anzahl  $o$  der Efferenzen  $A_i A_j$  mit  $A_i \neq A_j$  und entsprechend die Anzahl  $p$  der Afferenzen. Die beiden Funktionen  $f_i(j)$  und  $g_i(j)$  werden nun folgendermaßen definiert:

$$f_i(j) = \begin{cases} 1, & \text{falls } (A_i A_j) \wedge (A_j A_i) \text{ und} \\ 0, & \text{sonst} \end{cases}$$

$$g_i(j) = \begin{cases} 1, & \text{falls } (A_i A_j) \text{ xor } (A_j A_i) \\ 0, & \text{sonst} \end{cases}.$$

Daraus ergibt sich der Symmetrie-Index  $S_{A_i}$ , der für jedes Areal  $A_i$  angibt, ob seine Verbindungen überwiegend reziprok ( $S_{A_i} > 0,5$ ), überwiegend unidirektional ( $S_{A_i} < 0,5$ ) oder balanciert sind ( $S_{A_i} = 0,5$ ):

$$S_{A_i} = \frac{\sum_{j=1}^o f_i(j)}{\sum_{j=1}^o f_i(j) + \sum_{j=1}^{o+p} g_i(j)}$$

Diese Indizes sind in ähnlicher Form in der Graphentheorie entwickelt worden, erhalten jedoch eine erheblich weitergehende Bedeutung, wenn sie nicht auf abstrakte Graphen, sondern auf reale Daten angewendet werden. Am Beispiel der Konnektivitätsdaten aus der CoCoMac-Datenbank erhalten diese Indizes ihre besondere Bedeutung dadurch, dass die verbundenen Strukturen nicht abstrakte Knoten, sondern Areale mit einer Vielzahl von spezifischen morphologischen und funktionellen Assoziationen sind. Die Verbindungsmatrix in dem Parzellierungsschema des Präfrontalkortex von Walker, zum Beispiel, ist nahezu vollständig (>90%) bekannt und berücksichtigt gegenwärtig die anatomischen Verbindungsdaten aus 59 separaten Tracer-Injektionen. Die durchschnittliche

Verbindungsichte beträgt  $73\% \pm 18\%$  (MW  $\pm$  SA). Bereits die Konnektivitätsmatrix (Abb. 16) zeigt eine klare Unterteilung der präfrontalen kortikalen Areale in zwei große Gruppen: zum einen die lateralen Areale W8a, W8b, W9, W45 und W46, zum anderen die orbitomedialen Areale W10, W11, W12, W13, W14 und W25. Diese Unterteilung wurde statistisch durch einen  $\chi^2$ -Test ( $p < 10^{-5}$ ) sowie durch MDS und hierarchische Clusterung bestätigt (Abb. 46). Mithilfe der OSA (nicht gezeigt) ergibt sich eine weitere Unterteilung der orbitomedialen Areale in zwei Subgruppen, nämlich alle orbitalen Areale (W11-W14) vs. die medialen Areale W10 und W25. In einigen Konstellationen zeigte die mediale Subgruppe eine Assoziation mit ihrem topografischen Nachbar, der Area W9.

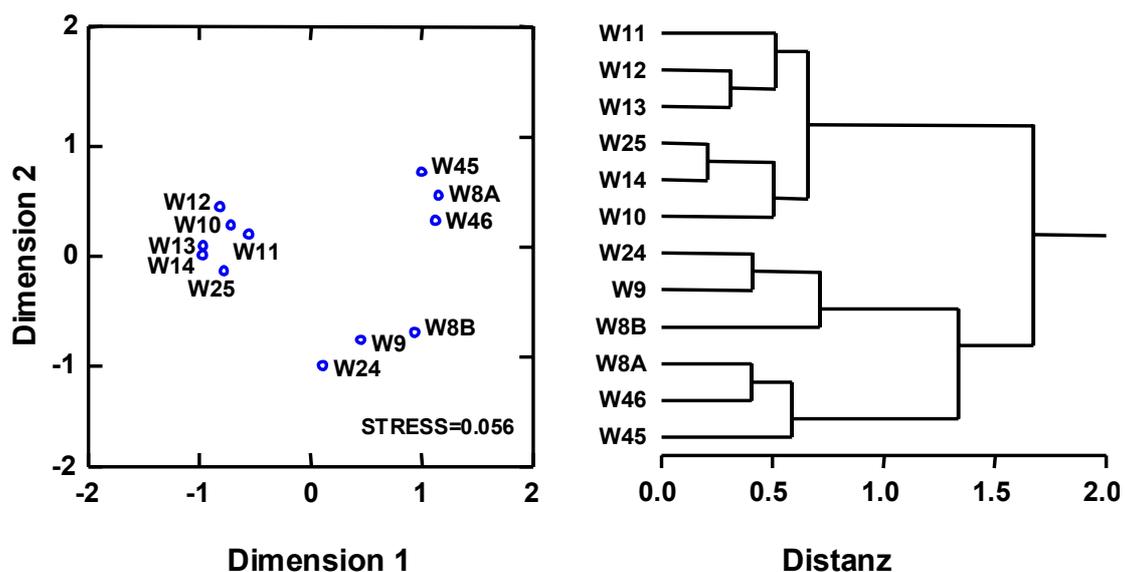


Abb. 46. Multivariate Analysen der intra-präfrontalen kortikalen Verbindungen in der Karte von Walker (1940). Die zugrunde liegenden Daten sind Abb. 16 gezeigt. Die MDS-Analyse (links) zeigt ein deutliches Cluster orbitomedialer Areale, sowie eine sequenzielle Anordnung der übrigen Areale, die mit Ausnahme der Area 24 dorsolateral liegen. Die hierarchische Clusterung (rechts) bestätigt die Auftrennung in orbitomediale und dorsolaterale Areal-Gruppen.

Zusätzliche Information wird durch Berechnung der Verbindungsichte und der Input/Output- und Symmetrie-Indizes für jedes Areal geliefert (Abb. 47). Innerhalb des Präfrontalkortex lassen sich dicht vernetzte Areale (W24, W12, W9) von schwach vernetzten Arealen (W8a) unterscheiden. Areale mit überwiegenden Afferenzen (Empfänger) sind W24 und W11, während W45 überwiegend Efferenzen besitzt (Sender). Das Areal W24 ist sowohl dicht vernetzt als auch ein Empfänger von Afferenzen aller präfrontalen kortikalen Areale. Dieses Verbindungsmuster steht im deutlichen Gegensatz zur Area W45, mit der starke reziproke Verbindungen bestehen. Das Areal W14, dagegen, zeigt eine Balance von nicht vollständig reziproken Afferenzen und Efferenzen.

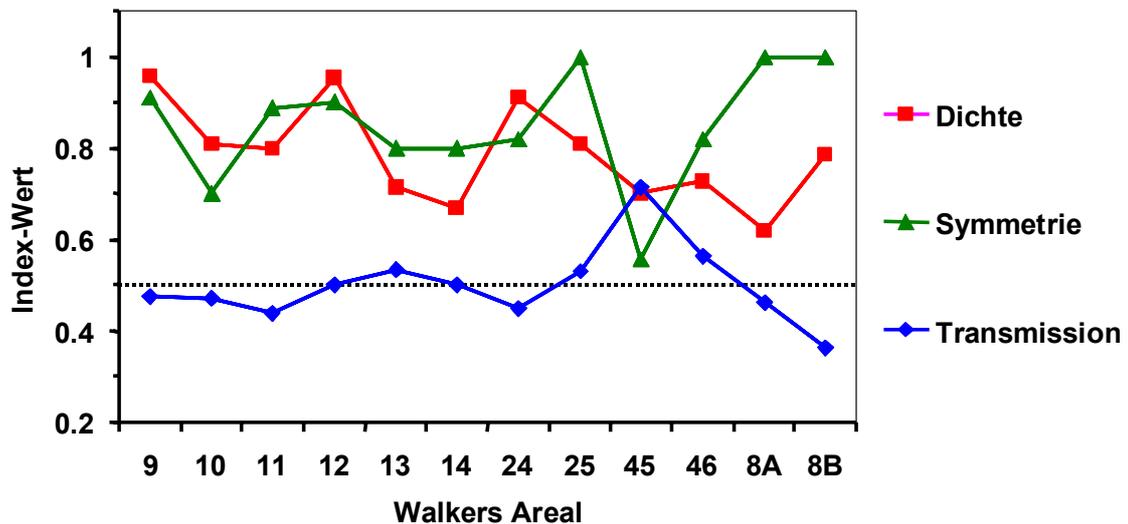


Abb. 47. Beteiligung der präfrontalen Areale in der Karte von Walker am präfrontalen Netzwerk gemessen an den Indizes Dichte, Symmetrie und Transmission (Input/Output). Eine Sonderstellung besitzt das Areal 45 (posteriorer ventrolateraler Kortex) aufgrund seiner ausgeprägten Eigenschaft, unidirektional von der dorsolateralen Gruppe zur orbitomedialen Gruppe zu projizieren.

Diese Ergebnisse geben detaillierte Einblicke in die interne Organisation des präfrontalen Primatenkortex und legen Struktur-Funktionsbeziehungen nahe, die ein tieferes Verständnis der Ergebnisse funktionseller bildgebender Studien ermöglichen. Beispielsweise stimmt die Unterteilung präfrontaler kortikaler Areale in eine laterale und eine orbitomediale Gruppe mit den charakteristischen Aktivierungsmustern bei der emotionalen Verarbeitung von Gesichtsausdrücken überein (Northoff et al., 2000). Darüber hinaus bestehen funktionelle Hinweise auf die weitere Unterteilung der orbitomedialen Gruppe in mediale und orbitale Areale in der Matrix nach Carmichael & Price (1994; Abb. 23). Die besonderen Eigenschaften der Area W24 (hohe Verbindungsdichte, perfekter Empfänger) – ähnliches gilt auch für die Area W46 – mag die Ursache für deren ubiquitäre Aktivierung bei kognitiven Aufgaben für den Präfrontalkortex darstellen. Die starken reziproken Verbindungen der komplementären Areale W24 (Empfänger) und W45 (Sender) sind vor allem im Kontext der lateralen und orbitomedialen Arealgruppen interessant: alle orbitomedialen Areale erhalten Afferenzen von allen anderen Mitgliedern dieser Gruppe. Sie senden ihre Efferenzen zu den Arealen der lateralen Gruppe mit Ausnahme von Area W45. Area 45 wiederum empfängt Afferenzen allein von den Arealen der lateralen Gruppe, sendet aber Efferenzen zurück in beide Gruppen.

Diese komplexen Organisationsmuster stehen in deutlichem Kontrast zu der Vorstellung von kortikalen Arealen als spezialisierten Zentren mit abgrenzbaren Funktionen (Hess, 1981). Vielmehr erinnert eine solche Verschaltungsstruktur an die neueren statistisch begründeten Konzepte von funktionseller Segregation und funktionseller Integration (Friston, 1996). Bislang jedoch ist unklar, wie diese statistischen Beschreibungen mit der Ebene der kortikalen Areale in Einklang gebracht werden könnten. Funktionelle Segregation wäre zwischen Arealgruppen zu

erwarten, die nur schwach miteinander verbunden sind. Areale mit Dominanz von Afferenzen (Empfänger) dagegen, sind am besten für funktionelle Integration geeignet, wenn sie Afferenzen von mehreren Arealgruppen erhalten. Auch Areale mit Dominanz der Efferenzen (Sender) könnten der funktionellen Integration dienen, indem sie viele andere Areale gleichsinnig beeinflussen. Besonders stark integrierend würde demnach die Kombination von Empfänger und Sender wirken, wie sie in der reziproken Kopplung von Area W24 und Area W45 vorliegt. Damit ermöglichen die hier vorgestellten Konnektivitätsindizes einen Zugang zum Verständnis der Rollen kortikaler Areale im Kontext der Konzepte von funktioneller Segregation und Integration.

Ein weiteres interessantes Merkmal dieser Interpretation der Rolle kortikaler Areale ist ihre Kontextabhängigkeit, d.h. die Rolle (z.B. Empfänger oder Sender), die ein kortikales Areal spielt, hängt ab von der betrachteten Arealgruppe. Beispielsweise wird die Area W24 durch ihre Verbindungen mit anderen präfrontalen Arealen als Empfänger charakterisiert. Untersucht man jedoch die Verbindungen dieses Areals mit anderen kortikalen Region, kann sich die Situation leicht ändern. Damit wird deutlich, dass kortikale Areale gleichzeitig mehr als eine Rolle spielen können, dass aber die jeweilige Rolle durch die kontextsensitiven Konnektivitätsindizes charakterisiert werden kann. Damit stellen diese Indizes nicht nur einfache zu erhebende Indikatoren dar, sondern ermöglichen ein vielschichtigeres Verständnis kortikaler (und möglicherweise auch subkortikaler) Organisationsprinzipien. Die Bedeutung dieser Betrachtungsweise mag darüber hinaus erhebliche Konsequenzen für die Interpretation von funktioneller Bildgebung (Horwitz et al., 1999) und von Läsionseffekten (Young et al., 2000) besitzen.

## **6 Zusammenfassung**

Die hier vorgelegte Arbeit untersucht eine Vielzahl von Struktur-Funktionsbeziehungen des Säugerkortex, indem sie den Bogen spannt von den intrinsischen Eigenschaften kortikaler Areale über die Kommunikationswege zwischen den Arealen zu der globalen Organisation und Funktionsweise kortikaler Netzwerke. Auf der Arealebene wird der Zusammenhang zwischen den laminären und kolumnären Organisationseinheiten auf der morphologischen Ebene und den Charakteristika der Aktivitätsausbreitung auf der funktionellen Ebene untersucht. Auf der Netzwerkebene werden anatomische Daten über die Faserprojektionen in Beziehung gesetzt zu den elektrophysiologisch beobachteten Aktivierungsmustern. Schließlich wird mit Hilfe von Computersimulationen eine Synthese der verschiedenen Beschreibungsebenen versucht, die zur Vorhersage von Aktivitätsausbreitung und Aktivierungsmustern und zu Strategien ihrer systematischen Beeinflussung führt. Es eröffnen sich weitere Perspektiven für die gezielte Erhebung und Auswertung unterschiedlicher Datenmodalitäten mit dem Ziel eines umfassenderen Verständnisses kortikaler Informationsverarbeitungs-Prozesse

## **7 Danksagungen**

Das Konzept dieser Arbeit geht auf eine Vielzahl von Überlegungen und Zufällen zurück, die im einzelnen kaum rekonstruiert werden können, aber immer dem Ziel des Knüpfens von Struktur-Funktionbeziehungen zum Verstehen der Organisation und Funktionsweise des Säugerkortex näher kamen. Für direkte Beiträge zu der vorgelegten Arbeit bin ich meinen Doktoranden (insbesondere Klaas Stephan) und meinen Kollegen in Düsseldorf (Jochen Staiger, Axel Schleicher, Heiko Luhmann), in Ulm (Fritz Sommer) und aus Newcastle (Claus Hilgetag, Jack Scannell, Malcolm Young) sehr dankbar. Die hier vorgelegten Arbeiten wurden durch Mittel des C. & O. Vogt-Institut für Hirnforschung, der Forschungskommission der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität, der DFG, des Wellcome Trust und der Europäischen Union unterstützt. Darüber hinaus danke ich meinen Mentoren Karl Zilles und Hans-Georg Hartwig, sowie vielen anderen, die an dieser Stelle anonym bleiben, und nicht zuletzt meiner Familie, die mich für ungezählte Stunden entbehrt hat.

## 8 Literatur

Albowitz B, Kuhnt U (1993) The contribution of intracortical connections to horizontal spread of activity in the neocortex as revealed by voltage sensitive dyes and a fast optical recording method. *Eur. J. Neurosci.* 5:1349-1359.

Albowitz B, Kuhnt U (1995) Epileptiform activity in the Guinea-pig neocortical slice spreads preferentially along supragranular layers - recordings with voltage-sensitive dyes. *Eur. J. Neurosci.* 7:1273-1284.

Amunts K, Malikovic A, Mohlberg H, Schormann T, Zilles K (2000) Brodmann's areas 17 and 18 brought into stereotaxic space-where and how variable? *Neuroimage* 11:66-84.

Amzica F, Steriade M (1995) Disconnection of intracortical synaptic linkages disrupts synchronization of a slow oscillation. *J Neurosci* 15:4658-77.

Arbib MA, Érdi P, Szentágothai J (1998) *Neural Organization. Structure, Function, and Dynamics.* Cambridge, MA: MIT.

Armstrong-James M, Fox K, Das-Gupta A (1992) Flow of excitation within rat barrel cortex on striking a single vibrissa. *J. Neurophysiol.* 68:1345-1358.

Aroniadou-Anderjaska V, Keller A (1995) LTP in the barrel cortex of adult rats. *NeuroReport* 6(17), 2297-2300.

Backhaus K, Erichson B, Plinke W, Weiber R (1996) *Multivariate Analysemethoden.* Berlin: Springer.

Bailey P, von Bonin G, Davis EW, Garol HW, McCulloch WS (1944a) Further observations on associational pathways in the brain of *Macaca mulatta*. *J. Neuropath. exp. Neurol.* 3:413-415.

Bailey P, von Bonin G, Davis EW, Garol HW, McCulloch WS, Roseman E, Silveira A (1944b) Functional organization of the medial aspect of the primate cortex. *J. Neurophysiol.* 7:51-55.

Bailey P, von Bonin G, Garol HW, McCulloch WS (1943a) Functional organization of temporal lobe of monkey (*Macaca mulatta*) and chimpanzee (*Pan satyrus*). *J. Neurophysiol.* 6:121-128.

Bailey P, von Bonin G, Garol HW, McCulloch WS (1943b) Long association fibres in cerebral hemispheres of monkey and chimpanzee. *J. Neurophysiol.* 6:129-134.

Baizer JS, Ungerleider LG, Desimone R (1991) Organization of visual inputs to the inferior temporal and posterior parietal cortex in macaques. *J Neurosci* 11:168-90.

Barbas H (1988) Anatomic organization of basoventral and mediodorsal visual recipient prefrontal regions in the rhesus monkey. *J. Comp. Neurol.* 276:313-342.

Barbas H, Pandya DN (1987) Architecture and frontal cortical connections of the premotor cortex (area 6) in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 256:211-228.

Bates JF, Goldman-Rakic PS (1993) Prefrontal connections of medial motor areas in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 336:211-228.

Blessing WW (1997) Inadequate frameworks for understanding bodily homeostasis. *Trends Neurosci* 20:235-9.

Braitenberg V, Schüz A (1989) Cortex: hohe Ordnung oder größtmögliches Durcheinander? *Spektrum der Wissenschaft* Mai:74-86.

Braitenberg V, Schüz A (1991) *Anatomy of the cortex*. Heidelberg: Springer.

Brodmann K (1909) *Vergleichende Lokalisationslehre der Großhirnrinde*. Leipzig: Barth.

Büchel C, Friston KJ (1997) Modulation of connectivity in visual pathways by attention: cortical interactions evaluated with structural equation modelling and fMRI. *Cereb Cortex* 7:768-78.

Burns GAPC (1997) *Neural connectivity of the rat: theory, methods and applications*. Oxford: University of Oxford.

Burns GAPC, Young MP (2000) Analysis of the connectional organization of neural systems associated with the hippocampus in rats. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 355:55-70.

Bush PC, Douglas RJ (1991) Synchronization of bursting action potential discharge in a model network of neocortical neurons. *Neural Computation* 3:19-30.

Callaway EM (1998) Local circuits in primary visual cortex of the macaque monkey. *Annu Rev Neurosci* 21:47-74.

Carmichael ST, Price JL (1994) Architectonic subdivision of the orbital and medial prefrontal cortex in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 346:366-402.

Carmichael ST, Price JL (1996) Connectional networks within the orbital and medial prefrontal cortex of macaque monkeys. *J Comp Neurol* 371:179-207.

Cavada C, Goldman-Rakic PS (1989) Posterior parietal cortex in rhesus monkey: II. Evidence for segregated corticocortical networks linking sensory and limbic areas with the frontal lobe. *J. Comp. Neurol.* 287.

Chagnac-Amitai Y, Connors BW (1989) Horizontal spread of synchronized activity in neocortex and its control by GABA-mediated inhibition. *J Neurophysiol* 61:747-58.

Chervin RD, Pierce PA, Connors BW (1988) Periodicity and directionality in the propagation of epileptiform discharges across neocortex. *J Neurophysiol* 60:1695-713.

Chicurel M (2000) Databasing the brain. *Nature* 406:822-825.

Chusid J, Sugar O, French JD (1948) Corticocortical connections of the cerebral cortex lying within the arcuate and lunate sulcus of the monkey (*Macaca mulatta*). *J. Neuropath. exp. Neurol.* 7:439-446.

Colby CL, Gattass R, Olson CR, Gross CG (1988) Topographical organization of cortical afferents to extrastriate visual area PO in the macaque: a dual tracer study. *J Comp Neurol* 269:392-413.

Crick F, Jones E (1993) Backwardness of human neuroanatomy. *Nature* 361:109-110.

Das A, Gilbert CD (1995) Long-range horizontal connections and their role in cortical reorganization revealed by optical recording of cat primary visual cortex. *Nature* 375(6534), 780-784.

Davies SN, Collingridge GL (1989) Role of excitatory amino acid receptors in synaptic transmission in area CA1 of the hippocampus. *Proc. R. Soc. Lond. B Biol. Sci.* 236:373-384.

Douglas RJ, Martin KA (1991) A functional microcircuit for cat visual cortex. *J Physiol* 440:735-69.

Douglas RJ, Martin KAC (1992) Exploring cortical microcircuits: a combined anatomical, physiological, and computational approach. In: *Single Neuron Computation* (McKenna T, Davis J, Zornetzer SF, eds), pp 381-412. Boston: Academic.

Dunsmore RH, Lennox MA (1950) Stimulation and strychninization of supracallosal anterior cingulate gyrus. *J. Neurophysiol.* 13:207-214.

Dusser de Barenne JG, Garol HW, McCulloch WS (1941) Functional organization of sensory and adjacent cortex of the monkey. *J. Neurophysiol.* 4:324-330.

Dusser de Barenne JG, McCulloch WS (1938) Functional organization in the sensory cortex of the monkey (*Macaca mulatta*). *J. Neurophysiol.* 1:69-85.

Dusser de Barenne JG, McCulloch WS (1939) Physiological delimitation of neurones in the central nervous system. *Am. J. Neurophysiol.* 127:621-628.

Dusser de Barenne JG, McCulloch WS, Ogawa T (1938) Functional organization in the face-subdivision of the sensory cortex of the monkey (*Macaca mulatta*). *J. Neurophysiol.* 1:436-441.

Engert F, Paulus GG, Bonhoeffer T (1996) A low-cost laser for flash photolysis of caged compounds. *J. Neurosci. Meth.* 66:47-54.

Felleman DJ, Van Essen DC (1991) Distributed hierarchical processing in the primate cerebral cortex. *Cereb. Cortex* 1:1-47.

Flechsig P (1920) *Anatomie des menschlichen Gehirns und Rückenmarks auf myelogenetischer Grundlage.* Leipzig: Thieme.

Frankenhaeuser B (1951) Limitations of method of strychnine neuronography. *J. Neurophysiol.* 14:73-79.

French JD, Sugar O, Chusid JG (1948) Corticocortical connections of the superior bank of the sylvian fissure in the monkey (*Macaca mulatta*). *J. Neurophysiol.* 11:185-192.

Friston KJ (1996) Statistical parametric mapping and other analyses of functional imaging data. In: *Brain Mapping. The Methods* (Toga AW, Mazziotta JC, eds), pp 363-386. San Diego: Academic.

Garol HW (1942a) The 'motor' cortex of the cat. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1:139-145.

Garol HW (1942b) The functional organization of the sensory cortex of the cat. II. *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 1:320-329.

Gilbert CD (1992) Horizontal integration and cortical dynamics. *Neuron* 9:1-13.

Gilbert CD, Wiesel TN (1983) Clustered intrinsic connections in cat visual cortex. *J. Neurosci.* 3, 1116-1133.

Hess WR (1981) Critical consideration on the concept of a nervous center. In: *Biological Order and Brain Organization* (Akert K, ed), pp 205-210. Berlin: Springer.

Hilgetag CC, Burns GAPC, O'Neill MA, Scannell JW, Young MP (2000) Anatomical connectivity defines the organization of clusters of cortical areas in the macaque monkey and the cat. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 355:91-110.

Hilgetag CC, Grant S (2000) Uniformity, specificity and variability of corticocortical connectivity. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 355:7-20.

Hilgetag CC, O'Neill MA, Young MP (1996) Indeterminate organization of the visual system. *Science* 271:776-777.

Holmes O (1994) The intracortical neuronal connectivity subserving focal epileptiform activity in rat neocortex. *Exp. Physiol.* 79:705-721.

Horwitz B, Tagamets MA, McIntosh AR (1999) Neural modeling, functional brain imaging, and cognition. *Trends Cogn Sci* 3:91-98.

Hubel DH, Wiesel TN (1962) Receptive fields, binocular interaction and functional architecture in the cat's visual cortex. *J. Physiol. (Lond.)* 160:106-154.

Jouve B, Rosenstiehl P, Imbert M (1998) A mathematical approach to the connectivity between the cortical visual areas of the macaque monkey. *Cereb Cortex* 8:28-39.

Katz LC, Dalva MB (1994) Scanning laser photostimulation: a new approach for analyzing brain circuits. *J. Neurosci. Meth.* 54:205-218.

Kehne JH, Kane JM, Chaney SF, Hurst G, McCloskey TC, Petty MA, Senyah Y, Wolf HH, Zobrist R, White HS (1997) Preclinical characterization of MDL 27,192 as a potential broad spectrum anticonvulsant agent with neuroprotective properties. *Epilepsy Res* 27:41-54.

Klee MR, Shirasaki T, Nakaye T, Akaike N, Melikov EN (1992) Interaction of strychnine and bicuculline with GABA- and glycine-induced chloride currents in isolated CA1 neurons. Speckman EJ, Gutnick MJ *Epilepsy and Inhibition.* 93-106. München-Wien-Baltimore, Urban & Schwarzenberg.

Kötter R, Meyer N (1992) The limbic system: a review of its empirical foundation. *Behav Brain Res* 52:105-27.

Kötter R, Sommer FT (2000) Global relationship between structural connectivity and activity propagation in the cerebral cortex. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 355:127-134.

Kötter R, Stephan KE (1997) Useless or helpful? The "limbic system" concept. *Rev Neurosci* 8:139-45.

Kötter R, Stephan KE, Palomero-Gallagher N, Geyer S, Schleicher A, Zilles K (2001) Multivariate parcellation of cerebral cortex. *NeuroImage* 13:S178.

Kötter R, Staiger JF, Zilles K, Luhmann HJ (1998) Analysing functional connectivity in brain slices by a combination of infrared video microscopy, flash photolysis of caged compounds and scanning methods. *Neuroscience* 86:265-77.

Kötter, R., Staiger JF, Zilles K, Luhmann HJ (1999) Dynamik der Erregungsausbreitung im somatosensorischen Kortex der Ratte. *Ann. Anat.* 181 (Suppl.):229-230.

LeDoux JE (1991) Emotion and the limbic system concept. *Concepts Neurosci.* 2:169-199.

Logothetis N (1998) Object vision and visual awareness. *Curr Opin Neurobiol* 8:536-44.

London JA, Cohen LB, Wu JY (1989) Optical recordings of the cortical response to whisker stimulation before and after the addition of an epileptogenic agent. *J Neurosci* 9:2182-90.

Lorente de No R (1938) The cerebral cortex: Architecture, intracortical connections and motor projections. In: *Physiology of the Nervous System* (Fulton DF, ed), pp 291-321. London: Oxford Univ. Press.

Lübke J, Egger V, Sakmann B, Feldmeyer D (2000) Columnar organization of dendrites and axons of single and synaptically coupled excitatory spiny neurons in layer 4 of the rat barrel cortex. *J Neurosci* 20:5300-5311.

Luppino G, Matelli M, Camarda R, Rizzolatti G (1993) Corticocortical connections of area F3 (SMA-proper) and area F6 (pre- SMA) in the macaque monkey. *J Comp Neurol* 338:114-40.

MacLean PD, Pribram KH (1953) Neuronographic analysis of medial and basal cerebral cortex. I. Cat. *J. Neurophysiol.* 16:312-323.

Martin KA, Whitteridge D (1984) Form, function and intracortical projections of spiny neurones in the striate visual cortex of the cat. *J Physiol* 353:463-504.

Maunsell JH, Gibson JR (1992) Visual response latencies in striate cortex of the macaque monkey. *J Neurophysiol* 68:1332-44.

McGuire PK, Bates JF, Goldman-Rakic PS (1991) Interhemispheric integration: I. Symmetry and convergence of the corticocortical connections of the left and the right principal sulcus (PS) and the left and the right supplementary motor area (SMA) in the rhesus monkey. *Cereb Cortex* 1:390-407.

- McIntosh AR, Gonzalez-Lima F (1994) Structural equation modeling and its application to network analysis in functional brain imaging. *Hum. Brain Map.* 2:2-22.
- McLean PD, Pribram KH (1953) Neuronographic analysis of medial and basal cerebral cortex. I. *Cat. J. Neurophysiol.* 16:312-323.
- Mehta AD, Schroeder CE (2000) Intermodal selective attention in monkeys. II: physiological mechanisms of modulation. *Cereb Cortex* 10:359-370.
- Mehta AD, Ulbert I, Schroeder CE (2000) Intermodal selective attention in monkeys. I: distribution and timing of effects across visual areas. *Cereb Cortex* 10:343-358.
- Mesulam MM, Mufson EJ (1982a) Insula of the old world monkey. I. Architectonics in the insulo-orbito-temporal component of the paralimbic brain. *J Comp Neurol* 212:1-22.
- Mesulam MM, Mufson EJ (1982b) Insula of the old world monkey. III: Efferent cortical output and comments on function. *J Comp Neurol* 212:38-52.
- Moran MA, Mufson EJ, Mesulam MM (1987) Neural inputs into the temporopolar cortex of the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 256:88-103.
- Morecraft RJ, Geula C, Mesulam MM (1992) Cytoarchitecture and neural afferents of orbitofrontal cortex in the brain of the monkey. *J Comp Neurol* 323:341-58.
- Mountcastle VB (1997) The columnar organization of the neocortex. *Brain* 120:701-722.
- Nelson DA, Katz LC (1995) Emergence of functional circuits in ferret visual cortex visualized by optical imaging. *Neuron* 15:23-34.
- Northoff G, Richter A, Gessner M, Schlagenhaut F, Fell J, Baumgart F, Kaulisch T, Kötter R, Stephan KE, Leschinger A, Hagner T, Bargel B, Witzel T, Hinrichs H, Bogerts B, Scheich H, Heinze HJ (2000) Functional dissociation between medial and lateral prefrontal cortical spatiotemporal activation in negative and positive emotions: a combined fMRI/MEG study. *Cereb Cortex* 10:93-107.
- Nowak LG, Bullier J (1997) The timing of information transfer in the visual system. In: *Cerebral Cortex* (Rockland KS, Kaas JH, Peters A, eds), pp 205-241. New York: Plenum.
- Nowak LG, Bullier J (1998a) Axons, but not cell bodies, are activated by electrical stimulation in cortical gray matter. II. Evidence from selective inactivation of cell bodies and axon initial segments. *Exp Brain Res* 118:489-500.

Nowak LG, Bullier J (1998b) Axons, but not cell bodies, are activated by electrical stimulation in cortical gray matter. I. Evidence from chronaxie measurements. *Exp Brain Res* 118:477-88.

Palm G (1988) *Assoziatives Gedächtnis und Gehirntheorie. Spektrum der Wissenschaft.*

Pavrides C, Miyashita E, Asanuma H (1993) Projection from the sensory to the motor cortex is important in learning motor skills in the monkey. *J Neurophysiol* 70:733-41.

Penfield W, Jasper H (1954) *Epilepsy and the functional anatomy of the human brain.* Boston, MA: Little, Brown and Company.

Petr R, Holden LB, Jirout J (1949) The efferent intercortical connections of the superficial cortex of the temporal lobe (*Macaca mulatta*). *J. Neuropath. exp. Neurol.* 8:100-103.

Petrides M, Pandya DN (1984) Projections to the frontal cortex from the posterior parietal region in the rhesus monkey. *J Comp Neurol* 228:105-16.

Petroni F, Panzeri S, Hilgetag CC, Kötter R, Young MP (2001) Simultaneity of responses in a hierarchical visual network. *NeuroReport* 12:2753-2759.

Porro CA, Francescato MP, Cettolo V, Diamond ME, Baraldi P, Zuiani C, Bazzocchi M, di Prampero PE (1996) Primary motor and sensory cortex activation during motor performance and motor imagery: a functional magnetic resonance imaging study. *J Neurosci* 16:7688-7698.

Pribram KH, Lennox MA, Dunsmore RH (1950) Some connections of the orbito-fronto-temporal, limbic and hippocampal areas of *Macaca mulatta*. *J. Neurophysiol.* 13:127-135.

Pribram KH, MacLean PD (1953) Neuronographic analysis of medial and basal cerebral cortex. II. Monkey. *J. Neurophysiol.* 16:324-340.

Rademacher J, Morosan P, Schormann T, Schleicher A, Werner C, Freund HJ, Zilles K (2001) Probabilistic mapping and volume measurement of human primary auditory cortex. *Neuroimage* 13:669-683.

Ramón y Cajal S (1911) *Histologie du système nerveux.* Paris: Maloine.

Rockland KS, Pandya DN (1979) Laminar origins and terminations of cortical connections of the occipital lobe in the rhesus monkey. *Brain Res* 179:3-20.

Rolls ET (1989) Information processing in the taste system of primates. *J Exp Biol* 146:141-64.

Rostock A, Tober C, Rundfeldt C, Bartsch R, Unverferth K, Engel J, Wolf HH, White HS (1997) AWD 140-190: a new anticonvulsant with a very good margin of safety. *Epilepsy Res* 28:17-28.

Scannell JW, Blakemore C, Young MP (1995) Analysis of connectivity in the cat cerebral cortex. *J. Neurosci.* 15:1463-1483.

Scannell JW, Burns GA, Hilgetag CC, O'Neil MA, Young MP (1999) The connectional organization of the cortico-thalamic system of the cat. *Cereb Cortex* 9:277-299.

Scannell JW, Grant S, Payne BR, Baddeley R (2000) On variability in the density of corticocortical and thalamocortical connections. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 355:21-35.

Schmolesky MT, Wang Y, Hanes DP, Thompson KG, Leutgeb S, Schall JD, Leventhal AG (1998) Signal timing across the macaque visual system. *J Neurophysiol* 79:3272-3278.

Schröder R, Luhmann HJ (1997) Morphology, electrophysiology and pathophysiology of supragranular neurons in rat primary somatosensory cortex. *Eur. J. Neurosci.* 9:163-176.

Schroeder CE, Mehta AD, Givre SJ (1998) A spatiotemporal profile of visual system activation revealed by current source density analysis in the awake macaque. *Cereb Cortex* 8:575-592.

Schwartz ML, Goldman-Rakic PS (1984) Callosal and intrahemispheric connectivity of the prefrontal association cortex in rhesus monkey: relation between intraparietal and principal sulcal cortex. *J Comp Neurol* 226:403-420.

Seal J (1989) Sensory and motor functions of the superior parietal cortex of the monkey as revealed by single-neuron recordings. *Brain Behav Evol* 33:113-117.

Shirasaki T, Klee MR, Nakaye T, Akaike N (1991) Differential blockade of bicuculline and strychnine on GABA- and strychnine-induced responses in dissociated rat hippocampal pyramidal cells. *Brain Res.* 561:77-83.

Snyder LH, Batista AP, Andersen RA (1998) Change in motor plan, without a change in the spatial locus of attention, modulates activity in posterior parietal cortex. *J Neurophysiol* 79:2814-2819.

Sommer FT, Kötter R (1997) Simulating a network of cortical areas using anatomical connection data in the cat. *Bower JM Computational Neuroscience. Trends in Research* 1997. 511-517. New York, Raven.

Sporns O, Tononi G, Edelman GM (2000) Theoretical neuroanatomy: relating anatomical and functional connectivity in graphs and cortical connection matrices. *Cereb Cortex* 10:127-41.

Stephan KE, Hilgetag CC, Burns GAPC, O'Neill MA, Young M.P., Kötter R. (2000a) Computational analysis of functional connectivity between areas of primate cerebral cortex. *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 355:111-126.

Stephan KE, Zilles K, Kötter R. (2000b) Coordinate-independent mapping of structural and functional data by Objective Relational Transformation (ORT). *Phil. Trans. R. Soc. Lond. B* 355:37-54.

Stepniewska I, Preuss TM, Kaas JH (1993) Architectonics, somatotopic organization, and ipsilateral cortical connections of the primary motor area (M1) of owl monkeys. *J Comp Neurol* 330:238-71.

Suarez H, Koch C, Douglas R (1995) Modeling direction selectivity of simple cells in striate visual cortex within the framework of the canonical microcircuit. *J Neurosci* 15:6700-6719.

Sugar O, Amador LV, Griponissiotis B (1950a) Corticocortical connections of posterior wall of central sulcus in monkey. *J. Neurophysiol.* 13:229-233.

Sugar O, Amador LV, Griponissiotis B (1950b) Corticocortical connections of the walls of the superior temporal sulcus in the monkey (*Macaca mulatta*). *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 9:179-185.

Sugar O, French JD, Chusid JG (1948) Corticocortical connections of the superior surface of the temporal operculum in the monkey (*Macaca mulatta*). *J. Neurophysiol.* 11:175-184.

Sugar O, Petr R, Amador LV, Griponissiotis B (1950c) Corticocortical connections of the cortex buried in the intraparietal and principal sulci of the monkey (*Macaca mulatta*). *J. Neuropath. Exp. Neurol.* 9:430-437.

Takahashi Y, Shirasaki T, Yamanaka H, Ishibashi H, Akaike N (1994) Physiological roles of glycine and GABA in dissociated neurons of rat visual cortex. *Brain Res.* 640:229-235.

Tanifuji M, Sugiyama T, Murase K (1994) Horizontal propagation of excitation in rat visual cortical slices revealed by optical imaging. *Science* 266:1057-1059.

Thorpe S, Fize D, Marlot C (1996) Speed of processing in the human visual system. *Nature* 381:520-522.

Tononi G, McIntosh AR, Russell DP, Edelman GM (1998) Functional clustering: identifying strongly interactive brain regions in neuroimaging data. *Neuroimage* 7:133-149.

Traub RD, Wong RK, Miles R, Michelson H (1991) A model of a CA3 hippocampal pyramidal neuron incorporating voltage-clamp data on intrinsic conductances. *J Neurophysiol* 66:635-650.

Ungerleider LG, Courtney SM, Haxby JV (1998) A neural system for human visual working memory. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:883-890.

Ungerleider LG, Mishkin M (1982) Two cortical visual systems. Ingle DG, Goodale MA, Mansfield RJQ. *Analysis of visual behavior*. 549-586. Cambridge, MA, MIT Press.

Vanduffel W, Vandenbussche E, Singer W, Orban GA (1995) Metabolic mapping of visual areas in the behaving cat: a [<sup>14</sup>C]2-deoxyglucose study. *J Comp Neurol* 354:161-180.

Vanduffel W, Vandenbussche E, Singer W, Orban GA (1997) A metabolic mapping study of orientation discrimination and detection tasks in the cat. *Eur J Neurosci* 9:1314-1328.

Vogt C, Vogt O (1919) *Allgemeinere Ergebnisse unserer Hirnforschung*. *J. Psychol. Neurol.* 25:279-462.

von Bonin G, Bailey P (1947) *The isocortex of macaca mulatta*. Urbana: The University of Illinois Press.

von Bonin G, Garol HW, McCulloch WS (1942) The functional organization of the occipital lobe. *Biol. Symposia* 7:165-192.

Wadman WJ, Gutnick MJ (1993) Non-uniform propagation of epileptiform discharge in brain slices of rat neocortex. *Neuroscience* 52:255-262.

Ward AWJr, Peden JK, Sugar O (1946) Cortico-cortical connections in the monkey with special reference to area 6. *J. Neurophysiol.* 9:453-462.

Watts DJ, Strogatz SH (1998) Collective dynamics of 'small-world' networks. *Nature* 393:440-442.

Wieboldt R, Gee KR, Niu L, Ramesh D, Carpenter BK, Hess GP (1994) Photolabile precursors of glutamate: Synthesis, photochemical properties, and activation of glutamate receptors on a microsecond time scale. *Proc Natl Acad Sci USA* 91:8752-8756.

Wilson MA, Bower JM (1989) The simulation of large-scale neural networks. In: *Methods in Neuronal Modeling. From Synapses to Network* (Koch C, Segev I, eds), pp 291-333. Cambridge, MA: MIT.

Yaxley S, Rolls ET, Sienkiewicz ZJ (1990) Gustatory responses of single neurons in the insula of the macaque monkey. *J Neurophysiol* 63:689-700.

Young MP (1992) Objective analysis of the topological organization of the primate cortical visual system. *Nature* 358:152-154.

Young MP (1993) The organization of neural systems in the primate cerebral cortex. *Proc. R. Soc. Lond. B* 252:13-18.

Young MP, Hilgetag CC, Scannell JW (2000) On imputing function to structure from the behavioural effects of brain lesions. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 355:147-161.

Young MP, Scannell JW, Burns GAPC (1994a) *The analysis of cortical connectivity*. Heidelberg: Springer.

Young MP, Scannell JW, Burns GAPC, Blakemore C (1994b) Analysis of connectivity: Neural systems in the cerebral cortex. *Rev. Neurosci.* 5:227-249.

Young MP, Scannell JW, O'Neill MA, Hilgetag CC, Burns G, Blakemore C (1995) Non-metric multidimensional scaling in the analysis of neuroanatomical connection data and the organization of the primate cortical visual system. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 348:281-308.

Yuste R, Tank DW, Kleinfeld D (1997) Functional study of the rat cortical microcircuitry with voltage-sensitive dye imaging of neocortical slices. *Cereb Cortex* 7:546-58.

Zilles K (1985) *The cortex of the rat. A stereotaxic atlas*. Berlin: Springer.

Zilles K, Clarke S (1997) Architecture, connectivity, and transmitter receptors of human extrastriate visual cortex. In: *Cerebral Cortex. Extrastriate Cortex in Primates* (Rockland KS, Kaas JH, Peters A, eds), pp 673-742. New York: Plenum.